

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2003 年 7 月 24 日 (24.07.2003)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 03/060117 A1

- (51) 国際特許分類⁷: C12N 15/09, C12Q 1/68, G01N 24/08
- (21) 国際出願番号: PCT/JP03/00117
- (22) 国際出願日: 2003 年 1 月 9 日 (09.01.2003)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願2002-002396 2002 年 1 月 9 日 (09.01.2002) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 科学技術振興事業団 (JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORPORATION) [JP/JP]; 〒332-0012 埼玉県 川口市 本町四丁目 1 番 8 号 Saitama (JP).
- (72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 古久保 哲朗 (KOKUBO, Tetsuro) [JP/JP]; 〒221-0013 神奈川県 横浜市 神奈川区 新子安 1-2-2-C 903 Kanagawa (JP). 白川 昌宏 (SHIRAKAWA, Masahiro) [JP/JP]; 〒231-0821 神奈川県 横浜市 中区 本牧原 2 1-4-1 O 6 Kanagawa (JP). テイム ジェレミー・ロビン・ハワード (TAME, Jeremy Robin Howard) [GB/JP]; 〒230-0051 神奈川県 横浜市 鶴見区 鶴見中央 5-3 1-2 4 エミナース・リベス・ヒルス 404 Kanagawa (JP).
- (74) 代理人: 廣田 雅紀 (HIROTA, Masanori); 〒107-0052 東京都 港区 赤坂二丁目 8 番 5 号 若林ビル 3 階 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (国内): US.

[続葉有]

(54) Title: METHOD OF MONITORING GENE EXPRESSION

(54) 発明の名称: 遺伝子発現のモニタリング方法

(57) **Abstract:** It is intended to provide a technique whereby the expression profile data which are the most important in analyzing gene function can be safely and conveniently obtained, i.e., a non-destructive and high-resolution visualization technique *in vivo* whereby gene expression dose can be monitored at real time and a high versatility can be established (i.e., being applicable even to a deep-lying tissue). Namely, the expression profile of a promoter can be non-destructively measured at real time by transferring a plasmid having a molecule (for example, a PHM gene), which induces a change in an NMR signal and thus can be measured by NMR, integrated into the downstream of a promoter responding to medium conditions or external stimulation and then measuring the expression dose of polyphosphoric acid in a deep-lying tissue or the like by ³¹P-NMR.

(57) 要約:

遺伝子機能の解析における最も重要な発現プロファイル情報を安全かつ簡便に得ることができる技術、すなわち、遺伝子の発現量をリアルタイムにモニターすることができ、深部組織にも対応できるなど汎用性の高いインビボにおける非破壊的かつ高解像度の可視化技術を提供するものである。NMRシグナルに変化を与えNMRによって計測可能な分子、例えばPHM遺伝子を培地条件や外界刺激等にレスポンスするプロモーターの下流に組み込んだプラスミドを導入し、深部組織内等のポリリン酸の発現量を³¹P-NMRで測定することにより、非破壊的かつリアルタイムにプロモーターの発現プロファイルを計測することができる。



WO 03/060117 A1



(84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK, TR).

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

添付公開書類:

— 国際調査報告書

明 細 書

遺伝子発現のモニタリング方法

5 技術分野

本発明は、NMRを用いた遺伝子発現の非破壊的なモニタリング方法、及び該モニタリング方法を利用した各種薬剤のスクリーニング方法に関する。

10 背景技術

真核細胞における遺伝子発現がいかなる原理によって制御されているのかを物質レベルで理解することは、現代生物学において最も重要な研究課題の一つであるとされている。R. Roeder が初めて試験管内転写反応に成功して以来約20年が経過したが、この間、インビトロ転写系を用いた膨大な実験が世界中で行われ、本発明者らによる基本転写因子TFIIDの精製・クローニングなど、個々の要素に関する数々の知見が得られている。しかしながらこうして得られた知見を生体系に適用しようとするると未だに次々と理解できない現象が観察される。これは生体内では個々の要素がばらばらに存在するのではなく、あるシステムの一員として協調的に機能しているためであると推察される。この生体内制御システムを正しく理解するためには、試験管内実験系のみでは不十分であり、より良い生体内実験系の開発が必要不可欠であるとされている。

従来、外来基質を必要とする β -ガラクトシダーゼやルシフェラーゼ、あるいは自己発光するGFPなどがレポーター遺伝子として開発され、様々な局面で有用な情報をもたらしてきたが、多くの場合その適用は透明な生物に限られ、動物の深部組織のような不透明試料には適用できない

かった。一方、不透明試料の場合、磁気共鳴を利用した外来遺伝子の高
感度イメージング法（MRI）として、トランスフェリンレセプター及
び β -ガラクトシダーゼをレポーター遺伝子として用いる方法が知られ
ているが、いずれも特殊な基質のデリバリーが必要である。例えば前者
5 の場合はMIONと呼ばれる酸化鉄を含む微粒子をトランスフェリンと
融合させる必要があり、後者の場合はEgadMeと呼ばれるガラクト
ピラノシル環を含むガドリニウムイオン錯体の合成が必要である。さら
にこれらの基質は生体内に一旦蓄積されれば容易には分解されず、遺伝
子の発現量をリアルタイムでモニターするには適当ではない。また、組
10 織切片を作製するインサイチュハイブリダイゼーションのような極めて
高い解像度を有する方法も知られているが、3万種類ともいわれる高等
真核生物の遺伝子全てについて、夥しい数の組織切片を作製し、それら
の発現を細胞レベルで調べ、コンピューター上で再構築することは現実
的に不可能である。ゼブラフィッシュや線虫のように透明な体を持つ極
15 く少数の例外を除けば、既存の方法により遺伝子発現を詳細に調べよう
とすれば、個体を切り刻むしかないのが実状である。その一方で、発生
段階や中枢神経系で働く遺伝子の多くは極めて短時間に発現がオン・オフ
するため、組織切片による解析すら極めて困難である。したがって、
whole body micro-imaging の手法は今後ますます重要になると考えられ
20 る。

ゲノムプロジェクトの進展に伴い、多くの生物種において塩基配列が
続々と決定されているが、遺伝子機能の解析にはその発現プロファイル
が最も重要な情報である。プロモーター領域の構造が各遺伝子の位置を
特定する上で必要不可欠であることは当然のこととして、それが同時に
25 下流にコードされる蛋白質の機能を特定する上でも極めて貴重な情報をも
たらすことはあまり知られていない。同一の事象に関与する複数の遺

伝子が同一の細胞で発現するのは当然のことであるにもかかわらず実際にこの種の情報が機能特定の際に利用されるケースが少ないのは、細胞レベルでその発現が詳しく調べられている遺伝子がゲノム全体から見ればごく僅かにすぎないためである。従って今後できるだけ多くの遺伝子

5 について細胞レベルでの発現データを収集し、発現プロファイルのデータベースを構築していくことは生体システムを理解する上で必要不可欠である。

前述したように、動物の深部組織のような不透明試料の場合、トランスフェリンレセプターや β -ガラクトシダーゼ遺伝子を用い、MRIで

10 測定する方法が知られているが、いずれも特殊な基質を用いる必要があり、これらの基質は生体内に蓄積され、分解が遅いことから、遺伝子の発現量をリアルタイムにモニターするには適当ではなく、また全ての細胞に均等に基質を分配することは事実上極めて困難であり、その他、深部組織にも対応できる非破壊計測法として、 μ PET (micro-positron

15 emission tomography) やSPECT (single-photon emission computed tomography) 等も知られているが、解像度がmmレベルであり、一細胞を可視化するには未だ不十分であり、汎用性の高いインビボにおける可視化技術の開発が必要とされていた。

本発明の課題は、遺伝子機能の解析における最も重要な発現プロファイル情報を安全かつ簡便に得ることができる技術、すなわち、遺伝子の

20 発現量をリアルタイムにモニターすることができ、深部組織にも対応できるなど汎用性の高いインビボにおける非破壊的かつ高解像度の可視化技術を提供することにある。

プロモーター構造が遺伝子の開始位置を決定する上で重要であり、ゲノム上の遺伝子が転写される際には、核内構造の変化、染色体構造の

25 変化、DNA構造の変化など試験管内転写反応だけでは再現できない多段

階の反応が連続して起こると考えられている。他方、出芽酵母はわずか
6000個の遺伝子しかもたない単純な単細胞生物であるにもかかわらず、
ヒトとほぼ同等の転写装置を備えており、情報発現系の観点から生
体システムを理解するためには現在最も魅力的なモデル生物であるとい
5 われている。この出芽酵母において、最近、ポリリン酸合成系に関与す
る一群の遺伝子（PHM遺伝子）が、真核生物としては初めて同定され
た（Molecular Biology of the Cell, Vol.11, 4309-4321, 2000）。

出芽酵母においては、培地中のリン酸濃度の低下に伴い転写因子PH
O4が高リン酸化状態から低リン酸化状態へと移行し、その結果PHO
10 4の核内蓄積量が上昇してリン酸代謝に関わる一連の標的遺伝子群を活
性化することが知られている。ポリリン酸合成酵素PHM1～4はPH
O4の標的遺伝子候補として単離されたものであるが、その後の解析か
らこれらは互いによく似た膜蛋白質をコードしていること、並びにその
欠損株においてはいずれもポリリン酸の蓄積量が低下することが示され
15 た。特にphm1Δphm2Δ二重変異株、phm3Δ株、phm4Δ
株においてはポリリン酸の蓄積が全く見られなくなる。これらのことは、
PHM1～4遺伝子が液胞内もしくは膜上において機能すると考えられ
るポリリン酸合成酵素のサブユニットをコードする可能性を強く示唆し
ている。本発明者らは、全ての生物に著量蓄積することが知られている
20 ポリリン酸を ^{31}P -NMRによって直接計測すること、あるいはポリリ
ン酸に吸着する鉄イオンの周囲の水に与える影響を ^1H -NMRにより
間接的に計測することにより、上記出芽酵母のポリリン酸合成酵素（P
HM）遺伝子がレポーター遺伝子として使用しうるのではと考え、PH
M遺伝子を培地条件や外界刺激等にレスポンスするプロモーターの下流
25 に組み込んだプラスミドを構築し、出芽酵母のPHM欠損株に導入し、
 ^{31}P -NMR及び ^1H -NMRにより細胞内のポリリン酸の発現量を非

破壊的かつリアルタイムに計測したところ、発現レベルに応じて酵母細胞内のポリリン酸の蓄積量が増加することを見出し、本発明を完成するに至った。

5 発明の開示

- すなわち本発明は、NMRシグナルに変化を与えNMRによって計測可能な分子の蓄積量を、外来基質を添加することなく、NMRにより測定することを特徴とする所定遺伝子の発現のモニタリング方法（請求項1）や、NMRシグナルに変化を与えNMRによって計測可能な分子が、
- 10 ポリリン酸であることを特徴とする請求項1記載の所定遺伝子の発現のモニタリング方法（請求項2）や、ポリリン酸が、所定遺伝子の下流に連結されたポリリン酸合成酵素遺伝子の発現により産生されるポリリン酸であることを特徴とする請求項2記載の所定遺伝子の発現のモニタリング方法（請求項3）や、ポリリン酸が、所定遺伝子の下流にインフレイムで連結されたポリリン酸合成酵素遺伝子の発現により産生されるポリリン酸であることを特徴とする請求項2記載の所定遺伝子の発現のモニタリング方法（請求項4）や、NMRシグナルに変化を与えNMRによって計測可能な分子が、チトクローム類であることを特徴とする請求項1記載の所定遺伝子の発現のモニタリング方法（請求項5）や、NM
- 15 Rによる測定が、NMRによる非破壊的な測定であることを特徴とする請求項1～5のいずれか記載の所定遺伝子の発現のモニタリング方法（請求項6）や、所定遺伝子の発現をリアルタイムでモニターすることを特徴とする請求項1～6のいずれか記載の所定遺伝子の発現のモニタリング方法（請求項7）や、所定遺伝子の細胞内、組織内又は器官内の
- 20 発現量を検出することを特徴とする請求項1～7のいずれか記載の所定遺伝子の発現のモニタリング方法（請求項8）や、所定遺伝子が、基本

転写因子の標的遺伝子であることを特徴とする請求項 1 ～ 8 のいずれか記載の所定遺伝子の発現のモニタリング方法（請求項 9）に関する。

また本発明は、請求項 1 ～ 9 のいずれか記載の所定遺伝子の発現のモニタリング方法を用いることを特徴とする各種薬剤のスクリーニング方法（請求項 10）に関する。

図面の簡単な説明

第 1 図は、出芽酵母（*S.cerevisiae*）の野生株及び *p h m 4* ノックアウト株（ $\Delta P H M 4$ ）の細胞集団におけるリン（ ^{31}P ）NMR スペクトルを NMR システムで測定した結果を示す写真である。

第 2 図は、出芽酵母（*S.cerevisiae*）の野生株の細胞を ^{31}P - NMR による 1 次元イメージングを行った結果を示す写真である。

第 3 図は、*G A L 1* プロモーターの下流に *P H M 4* 遺伝子を連結したプラスミドを形質転換した *p h m 4* ノックアウト株（ $\Delta P H M 4$ (*g a l 1 - 1 0 P H M 4*))、出芽酵母（*S.cerevisiae*）の野生株（Wild type）及び *p h m 4* ノックアウト株（ $\Delta P H M 4$ ）の細胞集団におけるポリリン酸量を図 1 と同様の方法で測定した結果を示す写真である。

第 4 図は、出芽酵母（*S.cerevisiae*）の野生株（上段）と *p h m 4* ノックアウト株（下段）とをそれぞれ 1 mM の $F e C l _3$ を添加した Y P D 培地で培養し、得られたコロニーを 1H - NMR により測定した結果を示す写真である。

発明を実施するための最良の形態

本発明の所定遺伝子の発現のモニタリング方法としては、NMR シグナルに変化を与えることにより、NMR によって計測可能な分子の蓄積量を、外来基質を添加することなく、NMR により測定するモニタリン

グ方法であれば特に制限されるものではなく、かかるNMRシグナルに変化を与えてNMRによって計測可能な分子としては、原子核を構成する個々の核子の軌道モーメントと核子のスピンモーメントから合成された核種に固有の磁気モーメントをもち、電磁波を照射すると共鳴吸収が
5 観測される核種を有する分子であればどのようなものでもよく、具体的にはポリリン酸の他、各種チトクローム類、フェリチン等の分子内に鉄原子を有するヘム蛋白質を好適に例示することができる。

全ての生物に著量蓄積し、 ^{31}P -NMRによって直接計測することができる上記ポリリン酸としては、所定遺伝子の下流に連結されたポリリン酸合成酵素遺伝子、例えば、出芽酵母のPHM遺伝子、特にPHM1
10 ~4遺伝子をレポーター遺伝子として用い、その発現により産生されるポリリン酸を具体的に例示することができるが、リアルタイムで測定する場合には所定遺伝子の下流にインフレイムで連結されたポリリン酸合成酵素遺伝子を用いることが好ましい。ポリリン酸のポリマーサイズとしてはこの方法により蓄積するポリリン酸のポリマーサイズはNMRの
15 検出範囲内にある平均鎖長50mer以下、特に ^{31}P -NMRにおいて感度が最も高いと考えられる10mer程度が好ましく、ポリマーサイズは細胞破碎液をポリアクリルアミドゲル電気泳動にかけた後トルイジンブルーで染色することによって確認することができる。また、ポリリン酸に由来するNMRシグナルは核酸のシグナルに干渉されることなく
20 独立に測定することができる。PHM1~5遺伝子の塩基配列及びPHM1~5のアミノ酸配列を配列番号1~10に示す。上記ポリリン酸合成酵素としては、細胞内でポリリン酸を産生しうる酵素であれば特に制限されず、上記出芽酵母のPHMの他、原核生物由来のPPK（ポリリン酸キナーゼ）、あるいはこれらのファンクショナル（機能）ホモログや
25 オルソログを使用することができる。

上記各種チトクローム類としては、チトクローム b、c₁、c、a₃のほか、チトクローム c オキシダーゼやチトクローム P 450、チトクローム b-559、b-563 を挙げることができるが、NMR による計測感度からしてチトクローム b-5 が好ましい。参考までに、ラット由来のチトクローム b-5 の遺伝子の塩基配列を配列番号 11、そのアミノ酸配列を配列番号 12 として、酵母由来のチトクローム b-5 の遺伝子の塩基配列を配列番号 13、そのアミノ酸配列を配列番号 14 として、それぞれ示す。その他、分子内に鉄原子を有するヘム蛋白質としては、フェリチン、ヘモグロビン、カタラーゼ、ペルオキシダーゼなどを挙げることができる。これらヘム蛋白質は、所定遺伝子の下流にインフレイムでヘム蛋白質遺伝子を連結することにより発現させることができることから、ヘム蛋白質遺伝子自体がレポーター遺伝子となる。

本発明の所定遺伝子の発現のモニタリング方法における所定遺伝子としては特に制限されるものではないが、遺伝子機能の解析における最も重要な発現プロファイル情報を得、その発現機構を解析する目的等からして、TFIID サブユニット (TAF) 等の基本転写因子の標的遺伝子、すなわち基本転写因子が標的とし、その発現を支配する遺伝子、例えば、RPS5 遺伝子、HIS4 遺伝子、TUB2 遺伝子等を挙げることができる。

本発明の所定遺伝子の発現のモニタリング方法においては、所定遺伝子の細胞内、組織内又は器官内の発現量を検出するために、動物の深部組織のような不透明部位における所定遺伝子の発現を非破壊的に測定する方法や、所定遺伝子の発現をリアルタイムでモニターする方法が好ましい。本発明の所定遺伝子の発現のモニタリング方法を実施するには、上記出芽酵母の PHM 遺伝子をレポーター遺伝子として用いる方法の他に、例えば大腸菌の PPK (ポリリン酸キナーゼ) 遺伝子を所定のプロ

モーターの下流に連結し、NMRにより蓄積したポリリン酸量を測定する方法を挙げることができ、この大腸菌を用いる場合、真核細胞の合成系とは異なり、PPKは1ステップでATPからポリリン酸を合成することができる。また、動物細胞のもつポリリン酸合成系の遺伝子群をレ

5 ポーター遺伝子として用いることも可能である。

本発明の各種薬剤、例えば所定遺伝子の発現を調節するプロモーターを標的とした各種薬剤のスクリーニング方法としては、上述の本発明の所定遺伝子の発現のモニタリング方法を用いるスクリーニング方法であれば特に制限されるものではなく、例えば、NMRシグナルに変化を与えNMRによって計測可能な分子を発現又は蓄積している細胞や組織と、
10 被検薬剤とをインビトロで接触させ、NMRにより所定遺伝子の発現量を測定し、被検薬剤のない対照における所定遺伝子の発現量と比較・評価することにより、所定遺伝子の翻訳産物である所定蛋白質の発現を抑制又は促進する各種薬剤をスクリーニングすることができる。このような候補薬剤としては、AIDS、白血病、癌等のウイルス発癌などの治療用薬剤を挙げることができる。

本発明の所定遺伝子の発現のモニタリング方法や各種薬剤のスクリーニング方法において用いられるNMR装置としては、NMRシグナルに変化を与えNMRによって計測可能な分子を測定しうるものであれば特に制限されないが、微生物のみならずマウス等の動物や植物に適用するように、大口径プローブにおいても高分解能が達成できるようにプローブ部分が改良されたNMR装置や磁場勾配アンプが改善されたNMR装置が好ましい。

以下、実施例により本発明をより具体的に説明するが、本発明の技術的範囲はこれらの例示に限定されるものではない。

出芽酵母 (S.cerevisiae) の野生株と p h m 4 ノックアウト株とを Y

P D 培地 (Bacto yeast extract [1 % w / v], Bacto peptone [2 % w / v], Glucose [2 % w / v]) で生育させ、得られた細胞集団のリン (^{31}P) NMR スペクトルを NMR システム (ブルカー社製 DRX - 500) を使用して測定した。文献値を参考にしてシグナルの帰属を行った結果、細胞内の無機リン酸 (orthophosphate)、ポリリン酸の末端部 (polyphosphate ends)、ポリリン酸 (polyphosphates) の内部に相当するシグナルをそれぞれ同定した。結果を図 1 に示す。図 1 から明らかなように、野生型の酵母細胞では殆どのリン酸がポリリン酸として蓄えられていることがわかる。しかし p h m 4 ノックアウト株においてはポリリン酸が完全に消失していた。

NMR 測定管に細胞を詰めた後、 ^{31}P - NMR による 1 次元イメージング (1 次元プロファイル) を取ってみた。結果を図 2 に示す。図 2 から明らかなように、ポリリン酸の内部 / ポリリン酸の末端部 / 無機リン酸のいずれのシグナルを利用してもプロファイルをとることができた。これは細胞内のポリリン酸をイメージングすることが可能であることを示す。一方、よく使われる ^1H (水素原子核) - MRI の手法による水に由来するシグナルを利用した 1 次元プロファイルでは細胞が詰まった部分と懸濁液の部分を区別することができないことがわかった。

p h m 4 ノックアウト株に対して、G A L 1 プロモーターの下流に P H M 4 遺伝子を連結したプラスミドを形質転換した。最小合成培地上で形質転換体を選抜した後、Y P G 培地 (Bacto yeast extract [1 % w / v], Bacto pepton [2 % w / v], Galactose [2 % w / v]) で生育させ、P H M 4 遺伝子の発現を誘導した。発現誘導後の形質転換体について、図 1 と同様の方法によりポリリン酸量を測定した。結果を図 3 に示す。図 3 から明らかなように、蓄積の回復が認められた。このことから、ポリリン酸の ^{31}P - NMR シグナルにより G A L 1 プロモーターの活

性をモニターすることができることがわかった。

出芽酵母 (*S.cerevisiae*) の野生株 (図 4 上段) と p h m 4 ノックアウト株 (図 4 下段) とをそれぞれ 1 mM の FeCl_3 を添加した Y P D 培地で培養し、得られたコロニーを幅 3 mm、厚さ 1 mm のアクリル版
5 に塗布し、N M R 管に詰め、横からのコロニーの ^1H -N M R によるイメージングを行った。その結果を図 4 に示す。これらの結果、通常の方法によるイメージングで、両株において同等のシグナルが検出できることがわかった (図 4 左)。また、上記のコロニーを特殊な技法によりイメージングした結果、ポリリン酸に貯蔵された鉄イオンの効果が強調され
10 ることが明らかとなり、野生型では鉄イオンの影響でシグナルが有意に減弱していることがわかった (図 4 右)。さらに条件を検討することにより、野生株のシグナルを完全に消すことも可能であると考えられる。この測定手法を用いれば、P H M 4 の発現を非常に感度良くモニターすることができる。

15

産業上の利用可能性

本発明によると、遺伝子機能の解析における最も重要な発現プロファイル情報を安全かつ簡便に得ることができる技術、すなわち、遺伝子の発現量をリアルタイムにモニターすることができ、微生物や細胞のみならず、マウス等の深部組織にも対応できるなど汎用性の高いインビボに
20 おける非破壊的かつ高解像度の可視化技術を提供することができる。

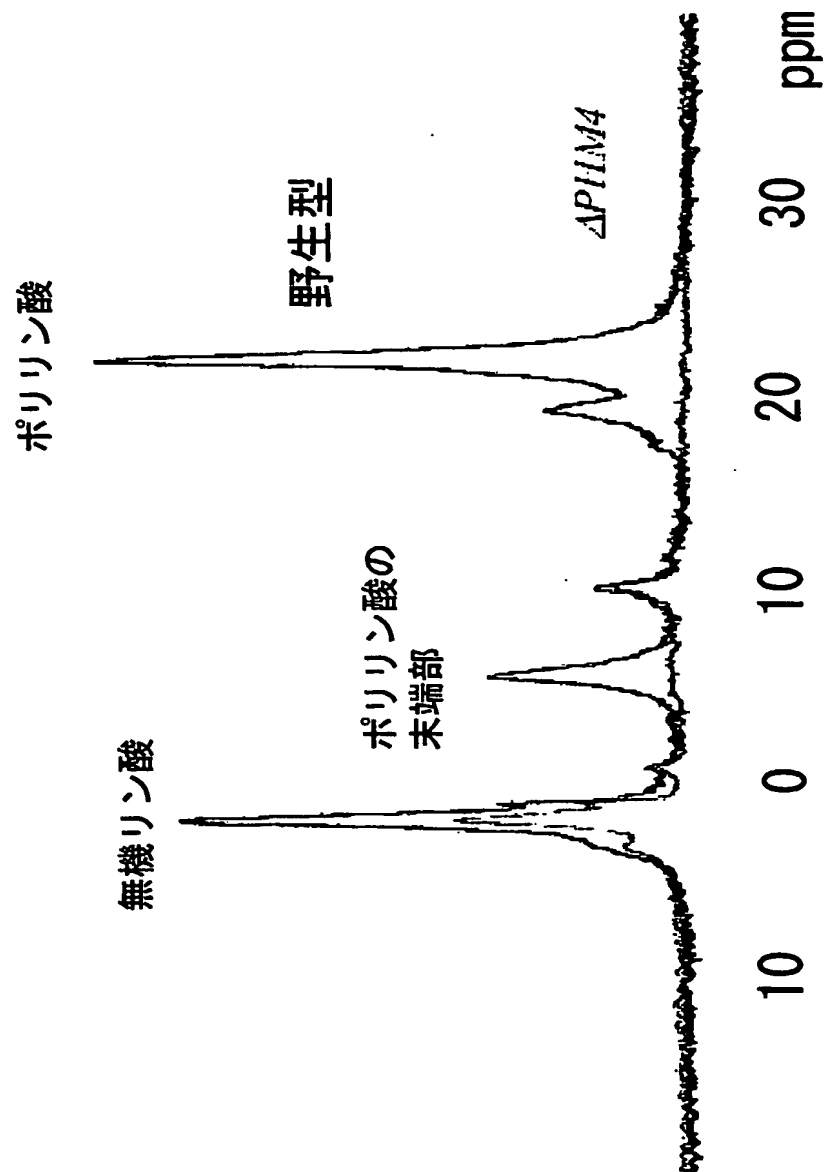
請 求 の 範 囲

1. NMRシグナルに変化を与えNMRによって計測可能な分子の蓄積量を、外来基質を添加することなく、NMRにより測定することを特徴とする所定遺伝子の発現のモニタリング方法。
- 5 2. NMRシグナルに変化を与えNMRによって計測可能な分子が、ポリリン酸であることを特徴とする請求項1記載の所定遺伝子の発現のモニタリング方法。
3. ポリリン酸が、所定遺伝子の下流に連結されたポリリン酸合成酵素
- 10 遺伝子の発現により産生されるポリリン酸であることを特徴とする請求項2記載の所定遺伝子の発現のモニタリング方法。
4. ポリリン酸が、所定遺伝子の下流にインフレイムで連結されたポリリン酸合成酵素遺伝子の発現により産生されるポリリン酸であることを特徴とする請求項2記載の所定遺伝子の発現のモニタリング方法。
- 15 5. NMRシグナルに変化を与えNMRによって計測可能な分子が、チトクローム類であることを特徴とする請求項1記載の所定遺伝子の発現のモニタリング方法。
6. NMRによる測定が、NMRによる非破壊的な測定であることを特徴とする請求項1～5のいずれか記載の所定遺伝子の発現のモニタリ
- 20 グ方法。
7. 所定遺伝子の発現をリアルタイムでモニターすることを特徴とする請求項1～6のいずれか記載の所定遺伝子の発現のモニタリング方法。
8. 所定遺伝子の細胞内、組織内又は器官内の発現量を検出することを特徴とする請求項1～7のいずれか記載の所定遺伝子の発現のモニタリ
- 25 ング方法。
9. 所定遺伝子が、基本転写因子の標的遺伝子であることを特徴とする

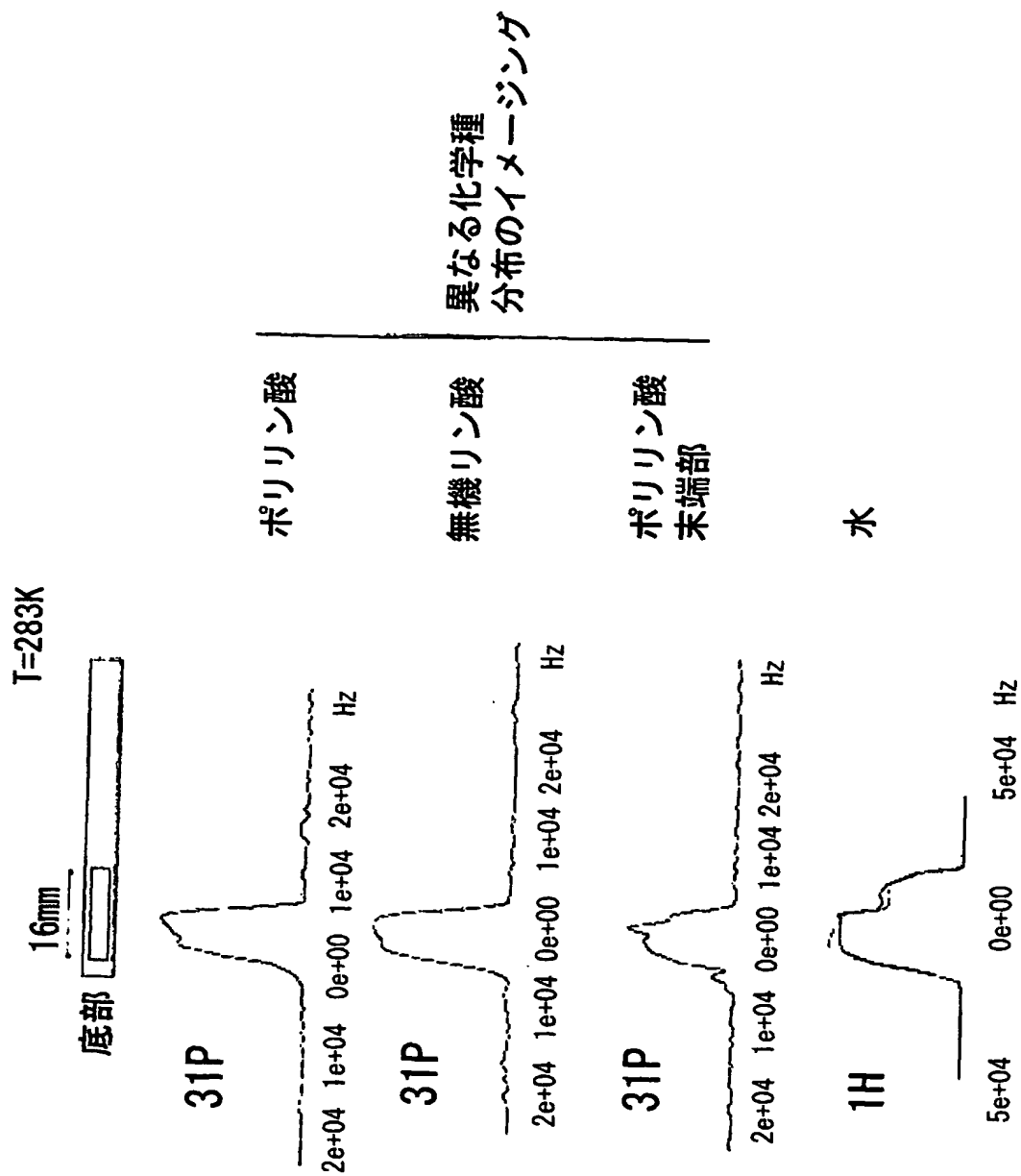
請求項 1 ～ 8 のいずれか記載の所定遺伝子の発現のモニタリング方法。

10. 請求項 1 ～ 9 のいずれか記載の所定遺伝子の発現のモニタリング方法を用いることを特徴とする各種薬剤のスクリーニング方法。

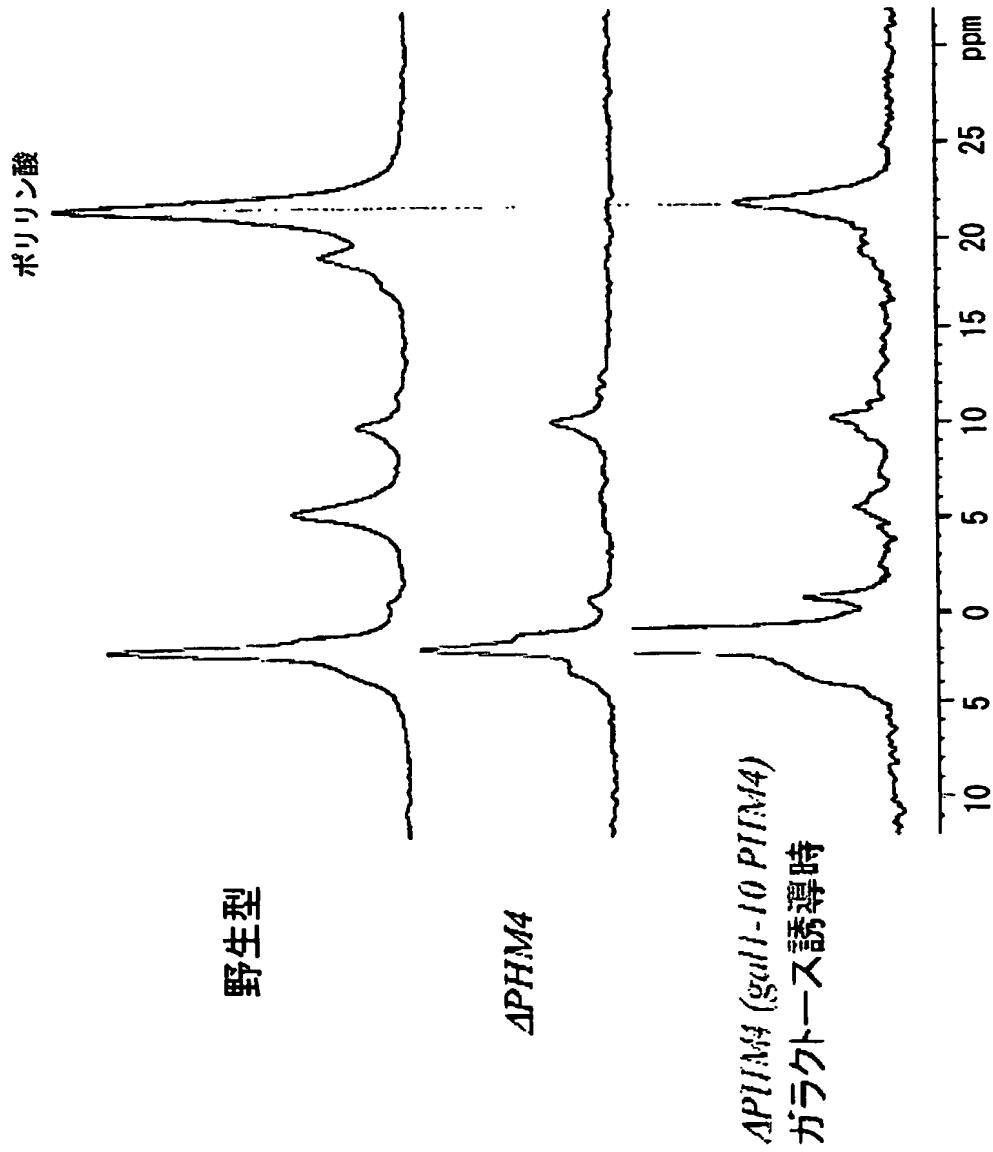
第 1 図



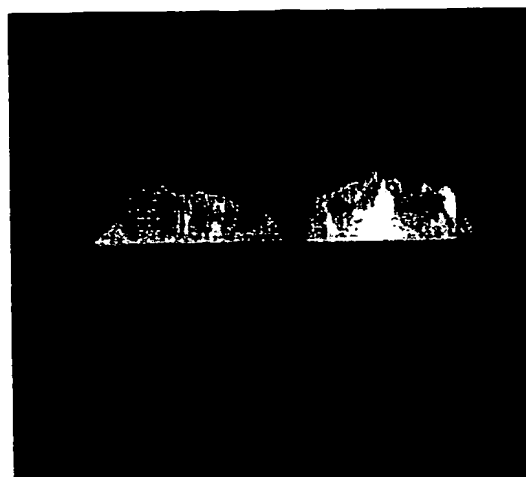
第 2 図



第 3 図



第 4 図



野生型

$\Delta PHM4$

SEQUENCE LISTING

<110> JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORPORATION

<120> Method of monitoring gene expression

<130> YG2002-35PCT

<140>

<141>

<150> JP P2002-002396

<151> 2002-01-09

<160> 14

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 2487

<212> DNA

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2484)

<400> 1

atg	cig	ttt	gga	gtg	aag	tig	gct	aat	gag	gtt	tat	ccf	ccf	tgg	aag	48
Met	Leu	Phe	Gly	Val	Lys	Leu	Ala	Asn	Glu	Val	Tyr	Pro	Pro	Trp	Lys	
1				5					10					15		

ggt	tcf	tat	att	aat	tat	gag	ggc	tig	aaa	aaa	ttc	cig	aag	gaa	gat	96
Gly	Ser	Tyr	Ile	Asn	Tyr	Glu	Gly	Leu	Lys	Lys	Phe	Leu	Lys	Glu	Asp	
			20					25					30			

agc	gtg	aag	gat	gga	agt	aac	gat	aag	aaa	gca	cgc	tgg	gac	gat	tca	144
Ser	Val	Lys	Asp	Gly	Ser	Asn	Asp	Lys	Lys	Ala	Arg	Trp	Asp	Asp	Ser	
			35					40				45				

gat gaa tcc aag ttt gtg gaa gag ttg gat aag gaa ctt gaa aaa gtc 192
 Asp Glu Ser Lys Phe Val Glu Glu Leu Asp Lys Glu Leu Glu Lys Val
 50 55 60

tat ggt ttt caa cta aaa aag tac aat aac ttg atg gag aga ttg tcc 240
 Tyr Gly Phe Gln Leu Lys Lys Tyr Asn Asn Leu Met Glu Arg Leu Ser
 65 70 75 80

cat ctg gag aaa caa aca gat acg gaa gca gcc ata aag gcc ttg gac 288
 His Leu Glu Lys Gln Thr Asp Thr Glu Ala Ala Ile Lys Ala Leu Asp
 85 90 95

gct gat gca ttc caa cgt gta ttg gag gaa ctg tta agc gag tct acc 336
 Ala Asp Ala Phe Gln Arg Val Leu Glu Glu Leu Leu Ser Glu Ser Thr
 100 105 110

gaa tta gac aat ttt aag aga ttg aac ttt act ggg ttt gct aag att 384
 Glu Leu Asp Asn Phe Lys Arg Leu Asn Phe Thr Gly Phe Ala Lys Ile
 115 120 125

gtt aag aaa cat gac aag cta tat cca aag tat cca tct gtt aaa tct 432
 Val Lys Lys His Asp Lys Leu Tyr Pro Lys Tyr Pro Ser Val Lys Ser
 130 135 140

ttg ttg gaa gtt aga tta aag gaa ttg cct tcc cat tcg gaa gaa tat 480
 Leu Leu Glu Val Arg Leu Lys Glu Leu Pro Ser His Ser Glu Glu Tyr
 145 150 155 160

tcc cca ttg ttg tat cgt att tca ttt ttg tac aac att ttg aga agt 528
 Ser Pro Leu Leu Tyr Arg Ile Ser Phe Leu Tyr Asn Ile Leu Arg Ser
 165 170 175

aat ttt aac act gca tct gaa ccc tta gcc agc gct tct aag ttt tct 576
 Asn Phe Asn Thr Ala Ser Glu Pro Leu Ala Ser Ala Ser Lys Phe Ser
 180 185 190

agc att gtc agc aat gac ata gac atg aat ttc aga agc ttt aaa ttt 624
 Ser Ile Val Ser Asn Asp Ile Asp Met Asn Phe Arg Ser Phe Lys Phe
 195 200 205

1gg gti cat aat gac aac tta atg gag glc aaa aca aga atc ttg aga	672
Trp Val His Asn Asp Asn Leu Met Glu Val Lys Thr Arg Ile Leu Arg	
210 215 220	
cat ctt ccc gtg ttg glc tac gcc aat gtt ccc tcc gaa aac gat gac	720
His Leu Pro Val Leu Val Tyr Ala Asn Val Pro Ser Glu Asn Asp Asp	
225 230 235 240	
cig glc aat aga ttc gaa tca gat ata tca aat aat gat gaa att gtg	768
Leu Val Asn Arg Phe Glu Ser Asp Ile Ser Asn Asn Asp Glu Ile Val	
245 250 255	
ggi agt tcg agc tcc act agt agc gta gaa cat ggc ttg gga gcg cgc	816
Gly Ser Ser Ser Ser Thr Ser Ser Val Glu His Gly Leu Gly Ala Arg	
260 265 270	
tcc ttc gat cca tta atc aac acg cta tat ttt gac aat gag cat ttt	864
Ser Phe Asp Pro Leu Ile Asn Thr Leu Tyr Phe Asp Asn Glu His Phe	
275 280 285	
gaa tta tat aac gac aag tta tta aag tta aat tca gca cct act tta	912
Glu Leu Tyr Asn Asp Lys Leu Leu Lys Leu Asn Ser Ala Pro Thr Leu	
290 295 300	
aga tta agg tgg act ggc cag tta tct gat aag ccg gat att ttc ttg	960
Arg Leu Arg Trp Thr Gly Gln Leu Ser Asp Lys Pro Asp Ile Phe Leu	
305 310 315 320	
gaa aag aaa act ctt att gaa gac gaa gcc act ggg aag tct gaa ttt	1008
Glu Lys Lys Thr Leu Ile Glu Asp Glu Ala Thr Gly Lys Ser Glu Phe	
325 330 335	
gat cta act aaa ttg caa ttg aaa caa aaa ttc att aac ggg ttt att	1056
Asp Leu Thr Lys Leu Gln Leu Lys Gln Lys Phe Ile Asn Gly Phe Ile	
340 345 350	
ttc gaa ggt gat aag aaa ttt aaa gaa caa act ttg aaa aag tta aaa	1104
Phe Glu Gly Asp Lys Lys Phe Lys Glu Gln Thr Leu Lys Lys Leu Lys	
355 360 365	

gaa agt ggt acg gca ggg aga gac ctg gaa agg tta gaa gaa gat ttc 1152
 Glu Ser Gly Thr Ala Gly Arg Asp Leu Glu Arg Leu Glu Glu Asp Phe
 370 375 380

tct gag att caa aac ttt att atc aag aat gaa ttg caa cca gtt ttt 1200
 Ser Glu Ile Gln Asn Phe Ile Ile Lys Asn Glu Leu Gln Pro Val Phe
 385 390 395 400

aga act gtt lac acc aga act gct ttc cag att ccc ggc gat gac aag 1248
 Arg Thr Val Tyr Thr Arg Thr Ala Phe Gln Ile Pro Gly Asp Asp Lys
 405 410 415

ata aga gta acc att gac tct aat att gta ttc atc aag gag gat tca 1296
 Ile Arg Val Thr Ile Asp Ser Asn Ile Val Phe Ile Lys Glu Asp Ser
 420 425 430

ttc gac aga gag cgt cca att aga gac cct aat acc tgg cat aga act 1344
 Phe Asp Arg Glu Arg Pro Ile Arg Asp Pro Asn Thr Trp His Arg Thr
 435 440 445

gat att gat gcc aat gtt gca aat ccc ttg aaa ttc ctg aga gga ggc 1392
 Asp Ile Asp Ala Asn Val Ala Asn Pro Leu Lys Phe Leu Arg Gly Gly
 450 455 460

gag tat gct aag ttt cct tat tca gta atg gaa att aaa gtg aaa agt 1440
 Glu Tyr Ala Lys Phe Pro Tyr Ser Val Met Glu Ile Lys Val Lys Ser
 465 470 475 480

tca tta gat tct tcg atg tct gcc agt tct atg att tct aat gta aaa 1488
 Ser Leu Asp Ser Ser Met Ser Ala Ser Ser Met Ile Ser Asn Val Lys
 485 490 495

ctg cct aaa aag cat ggt caa tgg ctg aac gat ttg aca aat tct cat 1536
 Leu Pro Lys Lys His Gly Gln Trp Leu Asn Asp Leu Thr Asn Ser His
 500 505 510

ttg gtc aaa gaa att cca aag ttt tct atc ttt gtg caa ggt gtg gca 1584
 Leu Val Lys Glu Ile Pro Lys Phe Ser Ile Phe Val Gln Gly Val Ala
 515 520 525

tca ttg tat gga gat gat gaa aaa tta gat atc tta cca ttt tgg tta	1632
Ser Leu Tyr Gly Asp Asp Glu Lys Leu Asp Ile Leu Pro Phe Trp Leu	
530 535 540	
cca gat ttg gaa aca gat att aga cag gat cct aag caa gca tat gag	1680
Pro Asp Leu Glu Thr Asp Ile Arg Gln Asp Pro Lys Gln Ala Tyr Glu	
545 550 555 560	
gag gaa aag aaa aaa ctg ttg aaa caa aaa gag ata caa aag aaa att	1728
Glu Glu Lys Lys Lys Leu Leu Lys Gln Lys Glu Ile Gln Lys Lys Ile	
565 570 575	
gat gga atg aga agg ctt tcc aac tta aaa gag cct caa cat caa gca	1776
Asp Gly Met Arg Arg Leu Ser Asn Leu Lys Glu Pro Gln His Gln Ala	
580 585 590	
gca gta ccg gta tct caa gag gaa aat gag cgt att acc tct caa ggt	1824
Ala Val Pro Val Ser Gln Glu Glu Asn Glu Arg Ile Thr Ser Gln Gly	
595 600 605	
gat ttg gag gca gac ggt tca tcc gat gag gaa act gag caa gaa cct	1872
Asp Leu Glu Ala Asp Gly Ser Ser Asp Glu Glu Thr Glu Gln Glu Pro	
610 615 620	
cat tcg aaa aga tca aag aaa gtt cgg aga aga aaa ccc aag gcc act	1920
His Ser Lys Arg Ser Lys Lys Val Arg Arg Arg Lys Pro Lys Ala Thr	
625 630 635 640	
ttc ttg aga att ttg gcc ggt aga gat cca aag tta atg ggg glg gat	1968
Phe Leu Arg Ile Leu Ala Gly Arg Asp Pro Lys Leu Met Gly Val Asp	
645 650 655	
tct gaa gaa gaa gaa att gaa ttg cca cct ggt glg aaa aaa cca tta	2016
Ser Glu Glu Glu Glu Ile Glu Leu Pro Pro Gly Val Lys Lys Pro Leu	
660 665 670	
aat ttg tta aaa aat gct ggt cct gla aac glg gag gca aag gtt tgg	2064
Asn Leu Leu Lys Asn Ala Gly Pro Val Asn Val Glu Ala Lys Val Trp	
675 680 685	

ctt gcc aac gaa cgt aca ttt aac aga tgg tta agt gtc acc agt tta 2112
 Leu Ala Asn Glu Arg Thr Phe Asn Arg Trp Leu Ser Val Thr Ser Leu
 690 695 700

ttg agt gtt ttg acg ttc tca att tat aat tct gtc aag aaa gcc gaa 2160
 Leu Ser Val Leu Thr Phe Ser Ile Tyr Asn Ser Val Lys Lys Ala Glu
 705 710 715 720

tac ccc act ttg gct aac tac atg gca tac gta tat ttt ggt cta acg 2208
 Tyr Pro Thr Leu Ala Asn Tyr Met Ala Tyr Val Tyr Phe Gly Leu Thr
 725 730 735

ata ttc tgt gct tta tgg tcc tat tcc att tat atg aaa aga gtt gat 2256
 Ile Phe Cys Ala Leu Trp Ser Tyr Ser Ile Tyr Met Lys Arg Val Asp
 740 745 750

att att caa caa aga agc ggt caa cat cta gat gca cca ctt ggt cca 2304
 Ile Ile Gln Gln Arg Ser Gly Gln His Leu Asp Ala Pro Leu Gly Pro
 755 760 765

gtt ttg gtt tct ata gtt tta ttt gtc act tta gtc gtt aat ttt gtt 2352
 Val Leu Val Ser Ile Val Leu Phe Val Thr Leu Val Val Asn Phe Val
 770 775 780

atg gcg ttt aga aat gca gca aag tct cgt caa gag ttg caa ala cag 2400
 Met Ala Phe Arg Asn Ala Ala Lys Ser Arg Gln Glu Leu Gln Ile Gln
 785 790 795 800

aat tta gaa gtt cct gaa aga ala cca gaa gta tta agg cca ctt caa 2448
 Asn Leu Glu Val Pro Glu Arg Ile Pro Glu Val Leu Arg Pro Leu Gln
 805 810 815

aat tat cta ttc aag tta atg ggg cca agc agt gat tag 2487
 Asn Tyr Leu Phe Lys Leu Met Gly Pro Ser Ser Asp
 820 825

<210> 2

<211> 828

<212> PRT

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 2

Met Leu Phe Gly Val Lys Leu Ala Asn Glu Val Tyr Pro Pro Trp Lys

1 5 10 15

Gly Ser Tyr Ile Asn Tyr Glu Gly Leu Lys Lys Phe Leu Lys Glu Asp

20 25 30

Ser Val Lys Asp Gly Ser Asn Asp Lys Lys Ala Arg Trp Asp Asp Ser

35 40 45

Asp Glu Ser Lys Phe Val Glu Glu Leu Asp Lys Glu Leu Glu Lys Val

50 55 60

Tyr Gly Phe Gln Leu Lys Lys Tyr Asn Asn Leu Met Glu Arg Leu Ser

65 70 75 80

His Leu Glu Lys Gln Thr Asp Thr Glu Ala Ala Ile Lys Ala Leu Asp

85 90 95

Ala Asp Ala Phe Gln Arg Val Leu Glu Glu Leu Leu Ser Glu Ser Thr

100 105 110

Glu Leu Asp Asn Phe Lys Arg Leu Asn Phe Thr Gly Phe Ala Lys Ile

115 120 125

Val Lys Lys His Asp Lys Leu Tyr Pro Lys Tyr Pro Ser Val Lys Ser

130 135 140

Leu Leu Glu Val Arg Leu Lys Glu Leu Pro Ser His Ser Glu Glu Tyr

145 150 155 160

Ser Pro Leu Leu Tyr Arg Ile Ser Phe Leu Tyr Asn Ile Leu Arg Ser

165 170 175

Asn Phe Asn Thr Ala Ser Glu Pro Leu Ala Ser Ala Ser Lys Phe Ser

180 185 190

Ser Ile Val Ser Asn Asp Ile Asp Met Asn Phe Arg Ser Phe Lys Phe

195	200	205
Trp Val His Asn Asp Asn Leu Met Glu Val Lys Thr Arg Ile Leu Arg		
210	215	220
His Leu Pro Val Leu Val Tyr Ala Asn Val Pro Ser Glu Asn Asp Asp		
225	230	235 240
Leu Val Asn Arg Phe Glu Ser Asp Ile Ser Asn Asn Asp Glu Ile Val		
245	250	255
Gly Ser Ser Ser Ser Thr Ser Ser Val Glu His Gly Leu Gly Ala Arg		
260	265	270
Ser Phe Asp Pro Leu Ile Asn Thr Leu Tyr Phe Asp Asn Glu His Phe		
275	280	285
Glu Leu Tyr Asn Asp Lys Leu Leu Lys Leu Asn Ser Ala Pro Thr Leu		
290	295	300
Arg Leu Arg Trp Thr Gly Gln Leu Ser Asp Lys Pro Asp Ile Phe Leu		
305	310	315 320
Glu Lys Lys Thr Leu Ile Glu Asp Glu Ala Thr Gly Lys Ser Glu Phe		
325	330	335
Asp Leu Thr Lys Leu Gln Leu Lys Gln Lys Phe Ile Asn Gly Phe Ile		
340	345	350
Phe Glu Gly Asp Lys Lys Phe Lys Glu Gln Thr Leu Lys Lys Leu Lys		
355	360	365
Glu Ser Gly Thr Ala Gly Arg Asp Leu Glu Arg Leu Glu Glu Asp Phe		
370	375	380
Ser Glu Ile Gln Asn Phe Ile Ile Lys Asn Glu Leu Gln Pro Val Phe		
385	390	395 400
Arg Thr Val Tyr Thr Arg Thr Ala Phe Gln Ile Pro Gly Asp Asp Lys		
405	410	415

Ile Arg Val Thr Ile Asp Ser Asn Ile Val Phe Ile Lys Glu Asp Ser
420 425 430

Phe Asp Arg Glu Arg Pro Ile Arg Asp Pro Asn Thr Trp His Arg Thr
435 440 445

Asp Ile Asp Ala Asn Val Ala Asn Pro Leu Lys Phe Leu Arg Gly Gly
450 455 460

Glu Tyr Ala Lys Phe Pro Tyr Ser Val Met Glu Ile Lys Val Lys Ser
465 470 475 480

Ser Leu Asp Ser Ser Met Ser Ala Ser Ser Met Ile Ser Asn Val Lys
485 490 495

Leu Pro Lys Lys His Gly Gln Trp Leu Asn Asp Leu Thr Asn Ser His
500 505 510

Leu Val Lys Glu Ile Pro Lys Phe Ser Ile Phe Val Gln Gly Val Ala
515 520 525

Ser Leu Tyr Gly Asp Asp Glu Lys Leu Asp Ile Leu Pro Phe Trp Leu
530 535 540

Pro Asp Leu Glu Thr Asp Ile Arg Gln Asp Pro Lys Gln Ala Tyr Glu
545 550 555 560

Glu Glu Lys Lys Lys Leu Leu Lys Gln Lys Glu Ile Gln Lys Lys Ile
565 570 575

Asp Gly Met Arg Arg Leu Ser Asn Leu Lys Glu Pro Gln His Gln Ala
580 585 590

Ala Val Pro Val Ser Gln Glu Glu Asn Glu Arg Ile Thr Ser Gln Gly
595 600 605

Asp Leu Glu Ala Asp Gly Ser Ser Asp Glu Glu Thr Glu Gln Glu Pro
610 615 620

His Ser Lys Arg Ser Lys Lys Val Arg Arg Arg Lys Pro Lys Ala Thr
625 630 635 640

Phe Leu Arg Ile Leu Ala Gly Arg Asp Pro Lys Leu Met Gly Val Asp
645 650 655

Ser Glu Glu Glu Glu Ile Glu Leu Pro Pro Gly Val Lys Lys Pro Leu
660 665 670

Asn Leu Leu Lys Asn Ala Gly Pro Val Asn Val Glu Ala Lys Val Trp
675 680 685

Leu Ala Asn Glu Arg Thr Phe Asn Arg Trp Leu Ser Val Thr Ser Leu
690 695 700

Leu Ser Val Leu Thr Phe Ser Ile Tyr Asn Ser Val Lys Lys Ala Glu
705 710 715 720

Tyr Pro Thr Leu Ala Asn Tyr Met Ala Tyr Val Tyr Phe Gly Leu Thr
725 730 735

Ile Phe Cys Ala Leu Trp Ser Tyr Ser Ile Tyr Met Lys Arg Val Asp
740 745 750

Ile Ile Gln Gln Arg Ser Gly Gln His Leu Asp Ala Pro Leu Gly Pro
755 760 765

Val Leu Val Ser Ile Val Leu Phe Val Thr Leu Val Val Asn Phe Val
770 775 780

Met Ala Phe Arg Asn Ala Ala Lys Ser Arg Gln Glu Leu Gln Ile Gln
785 790 795 800

Asn Leu Glu Val Pro Glu Arg Ile Pro Glu Val Leu Arg Pro Leu Gln
805 810 815

Asn Tyr Leu Phe Lys Leu Met Gly Pro Ser Ser Asp
820 825

<210> 3
 <211> 2508
 <212> DNA
 <213> *Saccharomyces cerevisiae*

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(2505)

<400> 3
 atg cta ttt ggt att aaa ctg gct aac gac gla tat cct ccc tgg aag 48
 Met Leu Phe Gly Ile Lys Leu Ala Asn Asp Val Tyr Pro Pro Trp Lys
 1 5 10 15
 gat tca tat atc gac tat gaa agg ttg aag aaa tta cta aag gaa agc 96
 Asp Ser Tyr Ile Asp Tyr Glu Arg Leu Lys Lys Leu Leu Lys Glu Ser
 20 25 30
 glc ala cat gat ggc cgt agt tcc gtg gat agt tgg tcc gaa agg aat 144
 Val Ile His Asp Gly Arg Ser Ser Val Asp Ser Trp Ser Glu Arg Asn
 35 40 45
 gaa tct gat ttt gtg gag gcc ttg gat aaa gaa cta gaa aag gtt tac 192
 Glu Ser Asp Phe Val Glu Ala Leu Asp Lys Glu Leu Glu Lys Val Tyr
 50 55 60
 aca ttt caa att tcc aaa tat aat gct gtc ttg cga aaa tta gat gat 240
 Thr Phe Gln Ile Ser Lys Tyr Asn Ala Val Leu Arg Lys Leu Asp Asp
 65 70 75 80
 tta gag gaa aac act aaa tca gct gaa aaa atc caa aaa ala aat tct 288
 Leu Glu Glu Asn Thr Lys Ser Ala Glu Lys Ile Gln Lys Ile Asn Ser
 85 90 95
 gag cag ttc aaa aac acc tta gaa gaa tgt cta gat gag gct caa aga 336
 Glu Gln Phe Lys Asn Thr Leu Glu Glu Cys Leu Asp Glu Ala Gln Arg
 100 105 110
 ttg gat aac ttt gac agg tta aat ttt act ggg ttt atc aag att gtg 384

Leu Asp Asn Phe Asp Arg Leu Asn Phe Thr Gly Phe Ile Lys Ile Val
 115 120 125

aag aaa cac gat aaa tta cat cca aac tat cct tct gta aag tct ctt 432
 Lys Lys His Asp Lys Leu His Pro Asn Tyr Pro Ser Val Lys Ser Leu
 130 135 140

tta caa gtc aga ttg aaa gaa ctt cct ttc aac aat tca gaa gag tat 480
 Leu Gln Val Arg Leu Lys Glu Leu Pro Phe Asn Asn Ser Glu Glu Tyr
 145 150 155 160

tct ccc ttg ttg tat agg atc tca tat ctg tac gag ttc ttg aga tca 528
 Ser Pro Leu Leu Tyr Arg Ile Ser Tyr Leu Tyr Glu Phe Leu Arg Ser
 165 170 175

aat tat gat cat cca aat acg gtg tct aaa tca tta gca agt act tct 576
 Asn Tyr Asp His Pro Asn Thr Val Ser Lys Ser Leu Ala Ser Thr Ser
 180 185 190

aaa tta tca cat ttt tct aac ctt gaa gac gca agt ttt aaa agc tac 624
 Lys Leu Ser His Phe Ser Asn Leu Glu Asp Ala Ser Phe Lys Ser Tyr
 195 200 205

aag ttt tgg gtt cat gat gat aat ata atg gag gtt aag gct aga atc 672
 Lys Phe Trp Val His Asp Asp Asn Ile Met Glu Val Lys Ala Arg Ile
 210 215 220

tta agg cat cta cct gct ttg gtt tat gcg tcg gtt cca aat gaa aat 720
 Leu Arg His Leu Pro Ala Leu Val Tyr Ala Ser Val Pro Asn Glu Asn
 225 230 235 240

gac gat ttc gtc gat aat cta gaa tca gat gtc cgc gla caa cct gaa 768
 Asp Asp Phe Val Asp Asn Leu Glu Ser Asp Val Arg Val Gln Pro Glu
 245 250 255

gcg cgc ttg aat att ggt tca aag agt aac agc ctt tct agt gat ggt 816
 Ala Arg Leu Asn Ile Gly Ser Lys Ser Asn Ser Leu Ser Ser Asp Gly
 260 265 270

aat agc aac caa gat gtt gaa att gga aaa tca aag agc gtt att ttc 864

Asn Ser Asn Gln Asp Val Glu Ile Gly Lys Ser Lys Ser Val Ile Phe	
275	280 285
cca cag tca tat gat cca aca atc act aca tta tat ttc gac aac gat	912
Pro Gln Ser Tyr Asp Pro Thr Ile Thr Thr Leu Tyr Phe Asp Asn Asp	
290	295 300
ttt ttt gat ttg tac aat aac aga ttg ttg aaa atc agc ggt gca cct	960
Phe Phe Asp Leu Tyr Asn Asn Arg Leu Leu Lys Ile Ser Gly Ala Pro	
305	310 315 320
acg ctg aga tta aga tgg atc ggt aaa ctg cta gac aaa cct gac ata	1008
Thr Leu Arg Leu Arg Trp Ile Gly Lys Leu Leu Asp Lys Pro Asp Ile	
	325 330 335
ttt ttg gaa aag aga act ttt aca gaa aat acc gaa act ggt aat tca	1056
Phe Leu Glu Lys Arg Thr Phe Thr Glu Asn Thr Glu Thr Gly Asn Ser	
	340 345 350
agt ttt gaa gaa atc aga ttg caa atg aaa gcc aaa ttc atc aac aat	1104
Ser Phe Glu Glu Ile Arg Leu Gln Met Lys Ala Lys Phe Ile Asn Asn	
	355 360 365
ttt att ttt aaa aat gat ccc agt tac aaa aac tat tta att aat caa	1152
Phe Ile Phe Lys Asn Asp Pro Ser Tyr Lys Asn Tyr Leu Ile Asn Gln	
	370 375 380
cta aga gaa agg ggt act caa aag gag gaa ctg gaa aaa ctt tct aga	1200
Leu Arg Glu Arg Gly Thr Gln Lys Glu Glu Leu Glu Lys Leu Ser Arg	
	385 390 395 400
gac ttt gat aac atc caa aac ttt att gtt gag gag aag ttg cag cca	1248
Asp Phe Asp Asn Ile Gln Asn Phe Ile Val Glu Glu Lys Leu Gln Pro	
	405 410 415
gtt ttg aga gct acc tat aat aga act gct ttc caa att cct gga gat	1296
Val Leu Arg Ala Thr Tyr Asn Arg Thr Ala Phe Gln Ile Pro Gly Asp	
	420 425 430
caa agt att aga gtc act atc gat tcc aat atc atg tac att aga gag	1344

Gln Ser Ile Arg Val Thr Ile Asp Ser Asn Ile Met Tyr Ile Arg Glu	
435	445
gat tct ttg gac aaa aat agg ccc att agg aac cct gag aat tgg cac 1392	
Asp Ser Leu Asp Lys Asn Arg Pro Ile Arg Asn Pro Glu Asn Trp His	
450	460
cgt gac gat att gat tcc aat att ccc aac cca ttg agg ttt tta aga 1440	
Arg Asp Asp Ile Asp Ser Asn Ile Pro Asn Pro Leu Arg Phe Leu Arg	
465	480
gca gga gaa tat tct aag ttc ccc tat tct gla atg gag att aag gtt 1488	
Ala Gly Glu Tyr Ser Lys Phe Pro Tyr Ser Val Met Glu Ile Lys Val	
485	495
ata aac caa gat aat tct caa atg cct aat tat gag tgg att aaa gat 1536	
Ile Asn Gln Asp Asn Ser Gln Met Pro Asn Tyr Glu Trp Ile Lys Asp	
500	510
tta act aat tca cat tta gtt aac gaa gtt cca aaa ttt tct ttg tac 1584	
Leu Thr Asn Ser His Leu Val Asn Glu Val Pro Lys Phe Ser Leu Tyr	
515	525
ttg caa ggt gtg gct tca ctg ttt ggt gaa gac gat aaa tat gtc aac 1632	
Leu Gln Gly Val Ala Ser Leu Phe Gly Glu Asp Asp Lys Tyr Val Asn	
530	540
att ttg cca ttc tgg ttg ccc gat tta gaa acc gac atc aga aag aac 1680	
Ile Leu Pro Phe Trp Leu Pro Asp Leu Glu Thr Asp Ile Arg Lys Asn	
545	560
cct cag gag gct tac gaa gaa gag aag aaa act tta caa aaa caa aag 1728	
Pro Gln Glu Ala Tyr Glu Glu Glu Lys Lys Thr Leu Gln Lys Gln Lys	
565	575
agc att cat gat aaa ctt gat aat atg aga agg tta tcc aaa atc tct 1776	
Ser Ile His Asp Lys Leu Asp Asn Met Arg Arg Leu Ser Lys Ile Ser	
580	590
gla cca gat gga aag acc act gaa aga caa ggg caa aaa gat cag aat 1824	

Val	Pro	Asp	Gly	Lys	Thr	Thr	Glu	Arg	Gln	Gly	Gln	Lys	Asp	Gln	Asn	
	595						600					605				
act	cgc	cac	glt	att	gca	gat	tta	gaa	gat	cac	gaa	tca	tca	gat	gaa	1872
Thr	Arg	His	Val	Ile	Ala	Asp	Leu	Glu	Asp	His	Glu	Ser	Ser	Asp	Glu	
	610					615					620					
gaa	ggt	act	gca	tig	ccc	aag	aaa	tct	gca	gtc	aaa	aaa	ggg	aag	aaa	1920
Glu	Gly	Thr	Ala	Leu	Pro	Lys	Lys	Ser	Ala	Val	Lys	Lys	Gly	Lys	Lys	
625					630				635					640		
ttc	aaa	acg	aat	gca	gct	ttc	tig	aaa	att	ctt	gct	gga	aaa	aat	att	1968
Phe	Lys	Thr	Asn	Ala	Ala	Phe	Leu	Lys	Ile	Leu	Ala	Gly	Lys	Asn	Ile	
			645					650					655			
tca	gaa	aat	gga	aat	gat	cca	tac	tcc	gac	gat	aca	gac	agt	gcc	tct	2016
Ser	Glu	Asn	Gly	Asn	Asp	Pro	Tyr	Ser	Asp	Asp	Thr	Asp	Ser	Ala	Ser	
		660						665				670				
tct	ttc	caa	tta	ccf	ccg	gga	gtt	aaa	aaa	cca	gtt	cac	ctt	tig	aaa	2064
Ser	Phe	Gln	Leu	Pro	Pro	Gly	Val	Lys	Lys	Pro	Val	His	Leu	Leu	Lys	
	675					680					685					
aat	gcc	ggt	ccf	gtc	aaa	gtt	gag	gca	aaa	gtt	tgg	ctc	gcc	aat	gaa	2112
Asn	Ala	Gly	Pro	Val	Lys	Val	Glu	Ala	Lys	Val	Trp	Leu	Ala	Asn	Glu	
	690					695					700					
cgt	aca	ttc	aat	aga	tgg	tta	agt	gta	acc	aca	tig	ctg	agt	gta	tig	2160
Arg	Thr	Phe	Asn	Arg	Trp	Leu	Ser	Val	Thr	Thr	Leu	Leu	Ser	Val	Leu	
705					710					715				720		
acc	ttt	tct	atc	tat	aat	tca	gtg	caa	aaa	gcc	gaa	ttt	cca	caa	cta	2208
Thr	Phe	Ser	Ile	Tyr	Asn	Ser	Val	Gln	Lys	Ala	Glu	Phe	Pro	Gln	Leu	
			725					730					735			
gct	gat	ctg	tig	gcc	tat	gta	tat	ttc	ttt	tig	act	tig	ttt	tgc	gga	2256
Ala	Asp	Leu	Leu	Ala	Tyr	Val	Tyr	Phe	Phe	Leu	Thr	Leu	Phe	Cys	Gly	
		740						745					750			
gta	tgg	gct	tat	aga	acc	tac	tta	aaa	aga	tta	act	ctt	att	aaa	ggt	2304

Val Trp Ala Tyr Arg Thr Tyr Leu Lys Arg Leu Thr Leu Ile Lys Gly
 755 760 765

aga agt ggt aag cat ttg gat gca cct gtg gga cct att ttg gtt gca 2352
 Arg Ser Gly Lys His Leu Asp Ala Pro Val Gly Pro Ile Leu Val Ala
 770 775 780

gtt gta tta atc gtt acc ttg gtt gtt aac ttt agt gtg gct ttt aaa 2400
 Val Val Leu Ile Val Thr Leu Val Val Asn Phe Ser Val Ala Phe Lys
 785 790 795 800

gag gcc gct agg agg gaa aga gga tta gta aac gtt tcc tcc cag cct 2448
 Glu Ala Ala Arg Arg Glu Arg Gly Leu Val Asn Val Ser Ser Gln Pro
 805 810 815

tcg tta ccc cgt aca cta aaa cca att caa gat ttt atc ttc aat ttg 2496
 Ser Leu Pro Arg Thr Leu Lys Pro Ile Gln Asp Phe Ile Phe Asn Leu
 820 825 830

gtt ggg gaa taa 2508
 Val Gly Glu
 835

<210> 4
 <211> 835
 <212> PRT
 <213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 4
 Met Leu Phe Gly Ile Lys Leu Ala Asn Asp Val Tyr Pro Pro Trp Lys
 1 5 10 15

Asp Ser Tyr Ile Asp Tyr Glu Arg Leu Lys Lys Leu Leu Lys Glu Ser
 20 25 30

Val Ile His Asp Gly Arg Ser Ser Val Asp Ser Trp Ser Glu Arg Asn
 35 40 45

Glu Ser Asp Phe Val Glu Ala Leu Asp Lys Glu Leu Glu Lys Val Tyr

50	55	60
Thr Phe Gln Ile Ser Lys Tyr Asn Ala Val Leu Arg Lys Leu Asp Asp		
65	70	75 80
Leu Glu Glu Asn Thr Lys Ser Ala Glu Lys Ile Gln Lys Ile Asn Ser		
	85	90 95
Glu Gln Phe Lys Asn Thr Leu Glu Glu Cys Leu Asp Glu Ala Gln Arg		
100	105	110
Leu Asp Asn Phe Asp Arg Leu Asn Phe Thr Gly Phe Ile Lys Ile Val		
115	120	125
Lys Lys His Asp Lys Leu His Pro Asn Tyr Pro Ser Val Lys Ser Leu		
130	135	140
Leu Gln Val Arg Leu Lys Glu Leu Pro Phe Asn Asn Ser Glu Glu Tyr		
145	150	155 160
Ser Pro Leu Leu Tyr Arg Ile Ser Tyr Leu Tyr Glu Phe Leu Arg Ser		
	165	170 175
Asn Tyr Asp His Pro Asn Thr Val Ser Lys Ser Leu Ala Ser Thr Ser		
	180	185 190
Lys Leu Ser His Phe Ser Asn Leu Glu Asp Ala Ser Phe Lys Ser Tyr		
195	200	205
Lys Phe Trp Val His Asp Asp Asn Ile Met Glu Val Lys Ala Arg Ile		
210	215	220
Leu Arg His Leu Pro Ala Leu Val Tyr Ala Ser Val Pro Asn Glu Asn		
225	230	235 240
Asp Asp Phe Val Asp Asn Leu Glu Ser Asp Val Arg Val Gln Pro Glu		
	245	250 255
Ala Arg Leu Asn Ile Gly Ser Lys Ser Asn Ser Leu Ser Ser Asp Gly		
260	265	270

Asn Ser Asn Gln Asp Val Glu Ile Gly Lys Ser Lys Ser Val Ile Phe
275 280 285

Pro Gln Ser Tyr Asp Pro Thr Ile Thr Thr Leu Tyr Phe Asp Asn Asp
290 295 300

Phe Phe Asp Leu Tyr Asn Asn Arg Leu Leu Lys Ile Ser Gly Ala Pro
305 310 315 320

Thr Leu Arg Leu Arg Trp Ile Gly Lys Leu Leu Asp Lys Pro Asp Ile
325 330 335

Phe Leu Glu Lys Arg Thr Phe Thr Glu Asn Thr Glu Thr Gly Asn Ser
340 345 350

Ser Phe Glu Glu Ile Arg Leu Gln Met Lys Ala Lys Phe Ile Asn Asn
355 360 365

Phe Ile Phe Lys Asn Asp Pro Ser Tyr Lys Asn Tyr Leu Ile Asn Gln
370 375 380

Leu Arg Glu Arg Gly Thr Gln Lys Glu Glu Leu Glu Lys Leu Ser Arg
385 390 395 400

Asp Phe Asp Asn Ile Gln Asn Phe Ile Val Glu Glu Lys Leu Gln Pro
405 410 415

Val Leu Arg Ala Thr Tyr Asn Arg Thr Ala Phe Gln Ile Pro Gly Asp
420 425 430

Gln Ser Ile Arg Val Thr Ile Asp Ser Asn Ile Met Tyr Ile Arg Glu
435 440 445

Asp Ser Leu Asp Lys Asn Arg Pro Ile Arg Asn Pro Glu Asn Trp His
450 455 460

Arg Asp Asp Ile Asp Ser Asn Ile Pro Asn Pro Leu Arg Phe Leu Arg
465 470 475 480

Ala Gly Glu Tyr Ser Lys Phe Pro Tyr Ser Val Met Glu Ile Lys Val
 485 490 495

Ile Asn Gln Asp Asn Ser Gln Met Pro Asn Tyr Glu Trp Ile Lys Asp
 500 505 510

Leu Thr Asn Ser His Leu Val Asn Glu Val Pro Lys Phe Ser Leu Tyr
 515 520 525

Leu Gln Gly Val Ala Ser Leu Phe Gly Glu Asp Asp Lys Tyr Val Asn
 530 535 540

Ile Leu Pro Phe Trp Leu Pro Asp Leu Glu Thr Asp Ile Arg Lys Asn
 545 550 555 560

Pro Gln Glu Ala Tyr Glu Glu Glu Lys Lys Thr Leu Gln Lys Gln Lys
 565 570 575

Ser Ile His Asp Lys Leu Asp Asn Met Arg Arg Leu Ser Lys Ile Ser
 580 585 590

Val Pro Asp Gly Lys Thr Thr Glu Arg Gln Gly Gln Lys Asp Gln Asn
 595 600 605

Thr Arg His Val Ile Ala Asp Leu Glu Asp His Glu Ser Ser Asp Glu
 610 615 620

Glu Gly Thr Ala Leu Pro Lys Lys Ser Ala Val Lys Lys Gly Lys Lys
 625 630 635 640

Phe Lys Thr Asn Ala Ala Phe Leu Lys Ile Leu Ala Gly Lys Asn Ile
 645 650 655

Ser Glu Asn Gly Asn Asp Pro Tyr Ser Asp Asp Thr Asp Ser Ala Ser
 660 665 670

Ser Phe Gln Leu Pro Pro Gly Val Lys Lys Pro Val His Leu Leu Lys
 675 680 685

Asn Ala Gly Pro Val Lys Val Glu Ala Lys Val Trp Leu Ala Asn Glu

690 695 700

Arg Thr Phe Asn Arg Trp Leu Ser Val Thr Thr Leu Leu Ser Val Leu
705 710 715 720

Thr Phe Ser Ile Tyr Asn Ser Val Gln Lys Ala Glu Phe Pro Gln Leu
725 730 735

Ala Asp Leu Leu Ala Tyr Val Tyr Phe Phe Leu Thr Leu Phe Cys Gly
740 745 750

Val Trp Ala Tyr Arg Thr Tyr Leu Lys Arg Leu Thr Leu Ile Lys Gly
755 760 765

Arg Ser Gly Lys His Leu Asp Ala Pro Val Gly Pro Ile Leu Val Ala
770 775 780

Val Val Leu Ile Val Thr Leu Val Val Asn Phe Ser Val Ala Phe Lys
785 790 795 800

Glu Ala Ala Arg Arg Glu Arg Gly Leu Val Asn Val Ser Ser Gln Pro
805 810 815

Ser Leu Pro Arg Thr Leu Lys Pro Ile Gln Asp Phe Ile Phe Asn Leu
820 825 830

Val Gly Glu
835

<210> 5

<211> 1947

<212> DNA

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1944)

<400> 5

alg aag ttt ggt gag cac ttg agc aag tct ctt att aga cag tac agc	48
Met Lys Phe Gly Glu His Leu Ser Lys Ser Leu Ile Arg Gln Tyr Ser	
1 5 10 15	
tac tat tat att agt tat gat gat ctg aag act gag cta gaa gat aac	96
Tyr Tyr Tyr Ile Ser Tyr Asp Asp Leu Lys Thr Glu Leu Glu Asp Asn	
20 25 30	
tta tct aag aat aac ggt cag tgg acg caa gaa ttg gaa aca gat ttt	144
Leu Ser Lys Asn Asn Gly Gln Trp Thr Gln Glu Leu Glu Thr Asp Phe	
35 40 45	
tta gaa tct ttg gag atc gag tta gac aag gtt tac aca ttt tgc aaa	192
Leu Glu Ser Leu Glu Ile Glu Leu Asp Lys Val Tyr Thr Phe Cys Lys	
50 55 60	
gtt aag cat agt gaa gtt ttt aga cgt gta aaa gag gtt caa gaa caa	240
Val Lys His Ser Glu Val Phe Arg Arg Val Lys Glu Val Gln Glu Gln	
65 70 75 80	
glg caa cat act gtt cgt ttg tta gac tcc aat aat cct cct act cag	288
Val Gln His Thr Val Arg Leu Leu Asp Ser Asn Asn Pro Pro Thr Gln	
85 90 95	
cta gat ttt gag att cta gaa gaa gaa cta agt gat atc att gcc gat	336
Leu Asp Phe Glu Ile Leu Glu Glu Glu Leu Ser Asp Ile Ile Ala Asp	
100 105 110	
gtt cat gat cta gca aag ttt tct aga cta aac tac act ggt ttc caa	384
Val His Asp Leu Ala Lys Phe Ser Arg Leu Asn Tyr Thr Gly Phe Gln	
115 120 125	
aag att atc aag aaa cac gat aag aag aca ggt ttt atc ttg aaa cca	432
Lys Ile Ile Lys Lys His Asp Lys Lys Thr Gly Phe Ile Leu Lys Pro	
130 135 140	
gtt ttc caa gtt aga tta gac tct aaa cca ttt ttc aag gaa aac tat	480
Val Phe Gln Val Arg Leu Asp Ser Lys Pro Phe Phe Lys Glu Asn Tyr	
145 150 155 160	

gac gaa cia gtc gtt aaa att tcc caa cia tat gat att gcc aga act 528
 Asp Glu Leu Val Val Lys Ile Ser Gln Leu Tyr Asp Ile Ala Arg Thr
 165 170 175

tca ggt cgc cca atc aag gga gac tca tct gct ggt ggg aag caa caa 576
 Ser Gly Arg Pro Ile Lys Gly Asp Ser Ser Ala Gly Gly Lys Gln Gln
 180 185 190

aat ttc gtt aga cag aca aca aag tat tgg gtt cac cct gat aac att 624
 Asn Phe Val Arg Gln Thr Thr Lys Tyr Trp Val His Pro Asp Asn Ile
 195 200 205

aca gaa ttg aag ctg atc atc ttg aag cat tta cca gtg tta gtc ttc 672
 Thr Glu Leu Lys Leu Ile Ile Leu Lys His Leu Pro Val Leu Val Phe
 210 215 220

aac act aat aag gaa ttc gaa aga gaa gat tcc gct att act tcg atc 720
 Asn Thr Asn Lys Glu Phe Glu Arg Glu Asp Ser Ala Ile Thr Ser Ile
 225 230 235 240

tat ttt gat aat gaa aat cia gac ctt tat tat ggc aga tta aga aaa 768
 Tyr Phe Asp Asn Glu Asn Leu Asp Leu Tyr Tyr Gly Arg Leu Arg Lys
 245 250 255

gat gaa ggt gca gaa gcc cac aga ttg aga tgg tat ggg ggt atg tct 816
 Asp Glu Gly Ala Glu Ala His Arg Leu Arg Trp Tyr Gly Gly Met Ser
 260 265 270

aca gac acg atc ttt gla gaa aga aag acc cat aga gag gat tgg act 864
 Thr Asp Thr Ile Phe Val Glu Arg Lys Thr His Arg Glu Asp Trp Thr
 275 280 285

ggt gag aaa tct gtc aag gca aga ttt gcg cia aag gaa cgt cat gtt 912
 Gly Glu Lys Ser Val Lys Ala Arg Phe Ala Leu Lys Glu Arg His Val
 290 295 300

aat gac ttc tta aag ggt aaa tat act gtt gat caa gla ttt gcc aag 960
 Asn Asp Phe Leu Lys Gly Lys Tyr Thr Val Asp Gln Val Phe Ala Lys
 305 310 315 320

aig cgt aaa gaa ggc aag aag cca aig aac gaa att gaa aac ttg gag	1008
Met Arg Lys Glu Gly Lys Lys Pro Met Asn Glu Ile Glu Asn Leu Glu	
325 330 335	
gcg tta gca tcc gaa att caa tac gtc aig tta aag aaa aag ttg aga	1056
Ala Leu Ala Ser Glu Ile Gln Tyr Val Met Leu Lys Lys Lys Leu Arg	
340 345 350	
ccg gta gtg aga tca ttc tac aat aga act gct ttt caa tta cct ggt	1104
Pro Val Val Arg Ser Phe Tyr Asn Arg Thr Ala Phe Gln Leu Pro Gly	
355 360 365	
gat gca aga gtt cgt atc tcc ctt gat aca gag tta act aig gtg aga	1152
Asp Ala Arg Val Arg Ile Ser Leu Asp Thr Glu Leu Thr Met Val Arg	
370 375 380	
gaa gac aac ttt gat ggt gtg gat aga act cat aag aat tgg agg aga	1200
Glu Asp Asn Phe Asp Gly Val Asp Arg Thr His Lys Asn Trp Arg Arg	
385 390 395 400	
act gat att ggt gtc gat tgg cca ttc aag cag cta gat gac aag gat	1248
Thr Asp Ile Gly Val Asp Trp Pro Phe Lys Gln Leu Asp Asp Lys Asp	
405 410 415	
att tgc cgt ttc cca tat gca gtc ctg gaa gtt aaa ttg caa act caa	1296
Ile Cys Arg Phe Pro Tyr Ala Val Leu Glu Val Lys Leu Gln Thr Gln	
420 425 430	
cta ggt caa gaa cct cca gag tgg gta cgt gaa tta gtc ggg tct cac	1344
Leu Gly Gln Glu Pro Pro Glu Trp Val Arg Glu Leu Val Gly Ser His	
435 440 445	
tta gtt gag cca gtc cca aaa ttc tcc aag ttt att cat ggt glg gct	1392
Leu Val Glu Pro Val Pro Lys Phe Ser Lys Phe Ile His Gly Val Ala	
450 455 460	
acc tta cta aat gat aaa gtg gat tca atc cca ttt tgg tta cct caa	1440
Thr Leu Leu Asn Asp Lys Val Asp Ser Ile Pro Phe Trp Leu Pro Gln	
465 470 475 480	

atg gat gtt gat atc agg aaa cct cca cta cca aca aat att gaa ata	1488
Met Asp Val Asp Ile Arg Lys Pro Pro Leu Pro Thr Asn Ile Glu Ile	
485 490 495	
aca aga ccc ggt aga tcc gat aac gaa gat aac gac ttc gat gag gat	1536
Thr Arg Pro Gly Arg Ser Asp Asn Glu Asp Asn Asp Phe Asp Glu Asp	
500 505 510	
gat gag gat gac gct gct ttg gtt gct gcc atg aca aac gca ccc ggt	1584
Asp Glu Asp Asp Ala Ala Leu Val Ala Ala Met Thr Asn Ala Pro Gly	
515 520 525	
aat tct ctt gat ala gaa gaa tct gtt ggt tac ggg gct act tcg gcc	1632
Asn Ser Leu Asp Ile Glu Glu Ser Val Gly Tyr Gly Ala Thr Ser Ala	
530 535 540	
ccc acc tcc aac act aat cat gtt gtt gag agt gct aat gct gct tat	1680
Pro Thr Ser Asn Thr Asn His Val Val Glu Ser Ala Asn Ala Ala Tyr	
545 550 555 560	
tat caa aga aag atc agg aat gcc gaa aat cct atc tcc aag aaa tac	1728
Tyr Gln Arg Lys Ile Arg Asn Ala Glu Asn Pro Ile Ser Lys Lys Tyr	
565 570 575	
tat gaa atc gtg gca ttt ttt gac cac tat ttt aac ggt gat caa ata	1776
Tyr Glu Ile Val Ala Phe Phe Asp His Tyr Phe Asn Gly Asp Gln Ile	
580 585 590	
tct aaa atc cca aaa ggt act act ttt gat act caa att cgt gcc cca	1824
Ser Lys Ile Pro Lys Gly Thr Thr Phe Asp Thr Gln Ile Arg Ala Pro	
595 600 605	
ccg gaa aga cga tat gtg tgc cag ttc gtg tgg aac caa aag ttt act	1872
Pro Glu Arg Arg Tyr Val Cys Gln Phe Val Trp Asn Gln Lys Phe Thr	
610 615 620	
ttg cca ctg aaa gaa cct acc lgt ctt ggt lgt cca tct cga tat lgt	1920
Leu Pro Leu Lys Glu Pro Thr Cys Leu Gly Cys Pro Ser Arg Tyr Cys	
625 630 635 640	

tg ggc glg lcl cca cta cll tal taa
Trp Ala Val Ser Pro Leu Leu Tyr
645

1947

<210> 6
<211> 648
<212> PRT
<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 6
Met Lys Phe Gly Glu His Leu Ser Lys Ser Leu Ile Arg Gln Tyr Ser
1 5 10 15

Tyr Tyr Tyr Ile Ser Tyr Asp Asp Leu Lys Thr Glu Leu Glu Asp Asn
20 25 30

Leu Ser Lys Asn Asn Gly Gln Trp Thr Gln Glu Leu Glu Thr Asp Phe
35 40 45

Leu Glu Ser Leu Glu Ile Glu Leu Asp Lys Val Tyr Thr Phe Cys Lys
50 55 60

Val Lys His Ser Glu Val Phe Arg Arg Val Lys Glu Val Gln Glu Gln
65 70 75 80

Val Gln His Thr Val Arg Leu Leu Asp Ser Asn Asn Pro Pro Thr Gln
85 90 95

Leu Asp Phe Glu Ile Leu Glu Glu Glu Leu Ser Asp Ile Ile Ala Asp
100 105 110

Val His Asp Leu Ala Lys Phe Ser Arg Leu Asn Tyr Thr Gly Phe Gln
115 120 125

Lys Ile Ile Lys Lys His Asp Lys Lys Thr Gly Phe Ile Leu Lys Pro
130 135 140

Val Phe Gln Val Arg Leu Asp Ser Lys Pro Phe Phe Lys Glu Asn Tyr

145 150 155 160
Asp Glu Leu Val Val Lys Ile Ser Gln Leu Tyr Asp Ile Ala Arg Thr
 165 170 175
Ser Gly Arg Pro Ile Lys Gly Asp Ser Ser Ala Gly Gly Lys Gln Gln
 180 185 190
Asn Phe Val Arg Gln Thr Thr Lys Tyr Trp Val His Pro Asp Asn Ile
 195 200 205
Thr Glu Leu Lys Leu Ile Ile Leu Lys His Leu Pro Val Leu Val Phe
 210 215 220
Asn Thr Asn Lys Glu Phe Glu Arg Glu Asp Ser Ala Ile Thr Ser Ile
225 230 235 240
Tyr Phe Asp Asn Glu Asn Leu Asp Leu Tyr Tyr Gly Arg Leu Arg Lys
 245 250 255
Asp Glu Gly Ala Glu Ala His Arg Leu Arg Trp Tyr Gly Gly Met Ser
 260 265 270
Thr Asp Thr Ile Phe Val Glu Arg Lys Thr His Arg Glu Asp Trp Thr
 275 280 285
Gly Glu Lys Ser Val Lys Ala Arg Phe Ala Leu Lys Glu Arg His Val
 290 295 300
Asn Asp Phe Leu Lys Gly Lys Tyr Thr Val Asp Gln Val Phe Ala Lys
305 310 315 320
Met Arg Lys Glu Gly Lys Lys Pro Met Asn Glu Ile Glu Asn Leu Glu
 325 330 335
Ala Leu Ala Ser Glu Ile Gln Tyr Val Met Leu Lys Lys Lys Leu Arg
 340 345 350
Pro Val Val Arg Ser Phe Tyr Asn Arg Thr Ala Phe Gln Leu Pro Gly
 355 360 365

Asp Ala Arg Val Arg Ile Ser Leu Asp Thr Glu Leu Thr Met Val Arg
370 375 380

Glu Asp Asn Phe Asp Gly Val Asp Arg Thr His Lys Asn Trp Arg Arg
385 390 395 400

Thr Asp Ile Gly Val Asp Trp Pro Phe Lys Gln Leu Asp Asp Lys Asp
405 410 415

Ile Cys Arg Phe Pro Tyr Ala Val Leu Glu Val Lys Leu Gln Thr Gln
420 425 430

Leu Gly Gln Glu Pro Pro Glu Trp Val Arg Glu Leu Val Gly Ser His
435 440 445

Leu Val Glu Pro Val Pro Lys Phe Ser Lys Phe Ile His Gly Val Ala
450 455 460

Thr Leu Leu Asn Asp Lys Val Asp Ser Ile Pro Phe Trp Leu Pro Gln
465 470 475 480

Met Asp Val Asp Ile Arg Lys Pro Pro Leu Pro Thr Asn Ile Glu Ile
485 490 495

Thr Arg Pro Gly Arg Ser Asp Asn Glu Asp Asn Asp Phe Asp Glu Asp
500 505 510

Asp Glu Asp Asp Ala Ala Leu Val Ala Ala Met Thr Asn Ala Pro Gly
515 520 525

Asn Ser Leu Asp Ile Glu Glu Ser Val Gly Tyr Gly Ala Thr Ser Ala
530 535 540

Pro Thr Ser Asn Thr Asn His Val Val Glu Ser Ala Asn Ala Ala Tyr
545 550 555 560

Tyr Gln Arg Lys Ile Arg Asn Ala Glu Asn Pro Ile Ser Lys Lys Tyr
565 570 575

Tyr Glu Ile Val Ala Phe Phe Asp His Tyr Phe Asn Gly Asp Gln Ile
 580 585 590

Ser Lys Ile Pro Lys Gly Thr Thr Phe Asp Thr Gln Ile Arg Ala Pro
 595 600 605

Pro Glu Arg Arg Tyr Val Cys Gln Phe Val Trp Asn Gln Lys Phe Thr
 610 615 620

Leu Pro Leu Lys Glu Pro Thr Cys Leu Gly Cys Pro Ser Arg Tyr Cys
 625 630 635 640

Trp Ala Val Ser Pro Leu Leu Tyr
 645

<210> 7

<211> 390

<212> DNA

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(387)

<400> 7

atg tct tca gca cca tta tta caa aga aca cct ggg aaa aag atc gct 48
 Met Ser Ser Ala Pro Leu Leu Gln Arg Thr Pro Gly Lys Lys Ile Ala
 1 5 10 15

ttg ccc aca cga gtt gag cca aaa gtg ttc ttt gcc aat gag cgt acc 96
 Leu Pro Thr Arg Val Glu Pro Lys Val Phe Phe Ala Asn Glu Arg Thr
 20 25 30

ttt ttg tcg tgg ttg aac ttt aca gtt atg ctg gga ggc ctt ggt gla 144
 Phe Leu Ser Trp Leu Asn Phe Thr Val Met Leu Gly Gly Leu Gly Val
 35 40 45

ggt tta ctg aat ttt ggt gac aag ata ggt agg gtc agt gca gga cta 192

Gly Leu Leu Asn Phe Gly Asp Lys Ile Gly Arg Val Ser Ala Gly Leu
 50 55 60

ttt act ttt gtt gcc atg ggt aca atg ata tac gcg ctt gta aca tac 240
 Phe Thr Phe Val Ala Met Gly Thr Met Ile Tyr Ala Leu Val Thr Tyr
 65 70 75 80

cac tgg aga gct gct gcg att aga cgt aga gga tca ggt cct tat gat 288
 His Trp Arg Ala Ala Ala Ile Arg Arg Arg Gly Ser Gly Pro Tyr Asp
 85 90 95

gac aga ttg ggg ccc act ttg ttg tgc ttt ttc tta ttg gtt gct gtc 336
 Asp Arg Leu Gly Pro Thr Leu Leu Cys Phe Phe Leu Leu Val Ala Val
 100 105 110

att atc aac ttt ata tta aga ttg aag tac aat gac gct aac act aag 384
 Ile Ile Asn Phe Ile Leu Arg Leu Lys Tyr Asn Asp Ala Asn Thr Lys
 115 120 125

tta tga 390
 Leu

<210> 8

<211> 129

<212> PRT

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 8

Met Ser Ser Ala Pro Leu Leu Gln Arg Thr Pro Gly Lys Lys Ile Ala
 1 5 10 15

Leu Pro Thr Arg Val Glu Pro Lys Val Phe Phe Ala Asn Glu Arg Thr
 20 25 30

Phe Leu Ser Trp Leu Asn Phe Thr Val Met Leu Gly Gly Leu Gly Val
 35 40 45

Gly Leu Leu Asn Phe Gly Asp Lys Ile Gly Arg Val Ser Ala Gly Leu
 50 55 60

Phe Thr Phe Val Ala Met Gly Thr Met Ile Tyr Ala Leu Val Thr Tyr
 65 70 75 80

His Trp Arg Ala Ala Ala Ile Arg Arg Arg Gly Ser Gly Pro Tyr Asp
 85 90 95

Asp Arg Leu Gly Pro Thr Leu Leu Cys Phe Phe Leu Leu Val Ala Val
 100 105 110

Ile Ile Asn Phe Ile Leu Arg Leu Lys Tyr Asn Asp Ala Asn Thr Lys
 115 120 125

Leu

<210> 9

<211> 2025

<212> DNA

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2022)

<400> 9

atg gtt gta gtg ggt aag agt gaa glg cgc aat gla agc atg agt agg 48
 Met Val Val Val Gly Lys Ser Glu Val Arg Asn Val Ser Met Ser Arg
 1 5 10 15

ccg aag aag aaa tca ttg att gcc aic ctg tcc acc tgt gtt ttg ttt 96
 Pro Lys Lys Lys Ser Leu Ile Ala Ile Leu Ser Thr Cys Val Leu Phe
 20 25 30

ttc ctc gtg ttt ata att ggt gct aaa ttt caa tat gtt tcc gtt ttc 144
 Phe Leu Val Phe Ile Ile Gly Ala Lys Phe Gln Tyr Val Ser Val Phe
 35 40 45

lcc aaa ttc tta gat gac agg ggg gac aac gag tca ctt caa tlg ctc 192
 Ser Lys Phe Leu Asp Asp Arg Gly Asp Asn Glu Ser Leu Gln Leu Leu
 50 55 60

aat gac ata gaa ttt aca agg cta gga ctc aca cct agg gag cca gla 240
 Asn Asp Ile Glu Phe Thr Arg Leu Gly Leu Thr Pro Arg Glu Pro Val
 65 70 75 80

att atc aaa gac gla aag aca ggg aag gag aga aaa tta cat gga cgg 288
 Ile Ile Lys Asp Val Lys Thr Gly Lys Glu Arg Lys Leu His Gly Arg
 85 90 95

ttc ctt cat att acc gat att cat cct gac cct tat tat gtc gaa gga 336
 Phe Leu His Ile Thr Asp Ile His Pro Asp Pro Tyr Tyr Val Glu Gly
 100 105 110

agc tct att gat gca gtt tgt cac aca gga aaa cca agc aaa aaa aag 384
 Ser Ser Ile Asp Ala Val Cys His Thr Gly Lys Pro Ser Lys Lys Lys
 115 120 125

gat gtc gca ccc aag ttt ggg aag gca atg tct gga tgt gat tct ccc 432
 Asp Val Ala Pro Lys Phe Gly Lys Ala Met Ser Gly Cys Asp Ser Pro
 130 135 140

glt att tta atg gaa gaa act ctc aga tgg att aaa gaa aat ctt aga 480
 Val Ile Leu Met Glu Glu Thr Leu Arg Trp Ile Lys Glu Asn Leu Arg
 145 150 155 160

gat aag att gat ttt gtc att tgg acg ggt gat aat atc aga cat gac 528
 Asp Lys Ile Asp Phe Val Ile Trp Thr Gly Asp Asn Ile Arg His Asp
 165 170 175

aat gac cgg aaa cat cca aga aca gaa gca caa att ttt gat atg aac 576
 Asn Asp Arg Lys His Pro Arg Thr Glu Ala Gln Ile Phe Asp Met Asn
 180 185 190

aat atc gtt gct gat aaa atg aca gaa tta ttt agt gct ggc aat gaa 624
 Asn Ile Val Ala Asp Lys Met Thr Glu Leu Phe Ser Ala Gly Asn Glu
 195 200 205

gaa gat cca aga gat ttt gat gig tct gtc att cca agt ctt gga aac	672
Glu Asp Pro Arg Asp Phe Asp Val Ser Val Ile Pro Ser Leu Gly Asn	
210 215 220	
aat gat gtc ttt cca cat aac atg ttt gca cta gga cca act cta caa	720
Asn Asp Val Phe Pro His Asn Met Phe Ala Leu Gly Pro Thr Leu Gln	
225 230 235 240	
act aga gaa tat tat agg att tgg aaa aat ttt gtt ccg cag cag cag	768
Thr Arg Glu Tyr Tyr Arg Ile Trp Lys Asn Phe Val Pro Gln Gln Gln	
245 250 255	
caa aga act ttt gat agg agt gct tca ttt ttg act gaa gtt att cca	816
Gln Arg Thr Phe Asp Arg Ser Ala Ser Phe Leu Thr Glu Val Ile Pro	
260 265 270	
ggg aag ctt gct gtc ctg tca att aac acg ctg tac tta ttc aag gcc	864
Gly Lys Leu Ala Val Leu Ser Ile Asn Thr Leu Tyr Leu Phe Lys Ala	
275 280 285	
aat ccg tta gtt gac aat tgt aat tca aaa aaa gaa cca ggt tac caa	912
Asn Pro Leu Val Asp Asn Cys Asn Ser Lys Lys Glu Pro Gly Tyr Gln	
290 295 300	
ctt tta ctt tgg ttc ggt tat gla tta gaa gaa cta agg agt agg gga	960
Leu Leu Leu Trp Phe Gly Tyr Val Leu Glu Glu Leu Arg Ser Arg Gly	
305 310 315 320	
atg aaa gla tgg tta agt gga cat gla cct cca atc gca aaa aat ttc	1008
Met Lys Val Trp Leu Ser Gly His Val Pro Pro Ile Ala Lys Asn Phe	
325 330 335	
gat cag tct tgc tac gat aag ttc acg cta tgg act cac gaa tac agg	1056
Asp Gln Ser Cys Tyr Asp Lys Phe Thr Leu Trp Thr His Glu Tyr Arg	
340 345 350	
gat ata atc att gga gga tta tac ggt cac atg aat att gac cac ttc	1104
Asp Ile Ile Ile Gly Gly Leu Tyr Gly His Met Asn Ile Asp His Phe	
355 360 365	

atc cca acg gat ggt aaa aaa gct aga aaa tct tta ttg aaa gcc atg 1152
 Ile Pro Thr Asp Gly Lys Lys Ala Arg Lys Ser Leu Leu Lys Ala Met
 370 375 380

gag caa tcc act cgt gtt caa caa gga gaa gac agt aat gaa gag gac 1200
 Glu Gln Ser Thr Arg Val Gln Gln Gly Glu Asp Ser Asn Glu Glu Asp
 385 390 395 400

gaa gaa act gaa ttg aat aga att ctg gat cac gct atg gcg gca aaa 1248
 Glu Glu Thr Glu Leu Asn Arg Ile Leu Asp His Ala Met Ala Ala Lys
 405 410 415

gaa gtt ttt tta atg gga gcg aaa cca tct aac aaa gaa gca tat atg 1296
 Glu Val Phe Leu Met Gly Ala Lys Pro Ser Asn Lys Glu Ala Tyr Met
 420 425 430

aac acc gtc cgc gac aca tac tat cgg aaa gtg tgg aat aag ctg gaa 1344
 Asn Thr Val Arg Asp Thr Tyr Tyr Arg Lys Val Trp Asn Lys Leu Glu
 435 440 445

aga gtg gat gaa aaa aat gtt gaa aat gag aag aaa aag aaa gaa aag 1392
 Arg Val Asp Glu Lys Asn Val Glu Asn Glu Lys Lys Lys Lys Glu Lys
 450 455 460

aag gac aaa aaa aag aaa aag cca atc act aga aaa gag ctg att gaa 1440
 Lys Asp Lys Lys Lys Lys Lys Pro Ile Thr Arg Lys Glu Leu Ile Glu
 465 470 475 480

cgc tat tcc att gtg aac ata ggt ggt tca gtc att cca act ttc aat 1488
 Arg Tyr Ser Ile Val Asn Ile Gly Gly Ser Val Ile Pro Thr Phe Asn
 485 490 495

cct tcc ttt agg atc tgg gaa tat aac atc acc gac ata gtg aat gac 1536
 Pro Ser Phe Arg Ile Trp Glu Tyr Asn Ile Thr Asp Ile Val Asn Asp
 500 505 510

tcc aat ttt gca gtt tct gag tat aag ccc tgg gat gaa ttt ttc gag 1584
 Ser Asn Phe Ala Val Ser Glu Tyr Lys Pro Trp Asp Glu Phe Phe Glu
 515 520 525

lca cta aat aag att atg gaa gac tct ttg cta gaa gat gaa atg gac	1632
Ser Leu Asn Lys Ile Met Glu Asp Ser Leu Leu Glu Asp Glu Met Asp	
530 535 540	
agc agt aat atc gag gtt ggg atc aac cgc gag aag atg ggc gaa aag	1680
Ser Ser Asn Ile Glu Val Gly Ile Asn Arg Glu Lys Met Gly Glu Lys	
545 550 555 560	
aaa aac aag aag aaa aag aaa aat gac aag act atg cca att gag atg	1728
Lys Asn Lys Lys Lys Lys Lys Asn Asp Lys Thr Met Pro Ile Glu Met	
565 570 575	
cca gac aaa tac gaa ctc ggc cct gca tat gla ccg cag tta ttc act	1776
Pro Asp Lys Tyr Glu Leu Gly Pro Ala Tyr Val Pro Gln Leu Phe Thr	
580 585 590	
ccg acg cgt ttc gtc caa ttc tac gcc gac ttg gaa aaa atc aat caa	1824
Pro Thr Arg Phe Val Gln Phe Tyr Ala Asp Leu Glu Lys Ile Asn Gln	
595 600 605	
gaa tta cat aat tca ttt gtt gaa tct aag gat att ttc agg tat gag	1872
Glu Leu His Asn Ser Phe Val Glu Ser Lys Asp Ile Phe Arg Tyr Glu	
610 615 620	
ata gaa tat acc tca gac gag aaa cca tac tca atg gat tct tta aca	1920
Ile Glu Tyr Thr Ser Asp Glu Lys Pro Tyr Ser Met Asp Ser Leu Thr	
625 630 635 640	
gla gga agt tat ttg gat ctt gca ggc aga tta tac gaa aac aaa cct	1968
Val Gly Ser Tyr Leu Asp Leu Ala Gly Arg Leu Tyr Glu Asn Lys Pro	
645 650 655	
gca tgg gaa aaa tac gtc gaa tgg tca ttt gcg tct tct gga tat aaa	2016
Ala Trp Glu Lys Tyr Val Glu Trp Ser Phe Ala Ser Ser Gly Tyr Lys	
660 665 670	
gat gat taa	2025
Asp Asp	

<210> 10

<211> 674

<212> PRT

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 10

Met Val Val Val Gly Lys Ser Glu Val Arg Asn Val Ser Met Ser Arg
1 5 10 15

Pro Lys Lys Lys Ser Leu Ile Ala Ile Leu Ser Thr Cys Val Leu Phe
20 25 30

Phe Leu Val Phe Ile Ile Gly Ala Lys Phe Gln Tyr Val Ser Val Phe
35 40 45

Ser Lys Phe Leu Asp Asp Arg Gly Asp Asn Glu Ser Leu Gln Leu Leu
50 55 60

Asn Asp Ile Glu Phe Thr Arg Leu Gly Leu Thr Pro Arg Glu Pro Val
65 70 75 80

Ile Ile Lys Asp Val Lys Thr Gly Lys Glu Arg Lys Leu His Gly Arg
85 90 95

Phe Leu His Ile Thr Asp Ile His Pro Asp Pro Tyr Tyr Val Glu Gly
100 105 110

Ser Ser Ile Asp Ala Val Cys His Thr Gly Lys Pro Ser Lys Lys Lys
115 120 125

Asp Val Ala Pro Lys Phe Gly Lys Ala Met Ser Gly Cys Asp Ser Pro
130 135 140

Val Ile Leu Met Glu Glu Thr Leu Arg Trp Ile Lys Glu Asn Leu Arg
145 150 155 160

Asp Lys Ile Asp Phe Val Ile Trp Thr Gly Asp Asn Ile Arg His Asp
165 170 175

Asn Asp Arg Lys His Pro Arg Thr Glu Ala Gln Ile Phe Asp Met Asn

180	185	190
Asn Ile Val Ala Asp Lys Met Thr Glu Leu Phe Ser Ala Gly Asn Glu		
195	200	205
Glu Asp Pro Arg Asp Phe Asp Val Ser Val Ile Pro Ser Leu Gly Asn		
210	215	220
Asn Asp Val Phe Pro His Asn Met Phe Ala Leu Gly Pro Thr Leu Gln		
225	230	235 240
Thr Arg Glu Tyr Tyr Arg Ile Trp Lys Asn Phe Val Pro Gln Gln Gln		
245	250	255
Gln Arg Thr Phe Asp Arg Ser Ala Ser Phe Leu Thr Glu Val Ile Pro		
260	265	270
Gly Lys Leu Ala Val Leu Ser Ile Asn Thr Leu Tyr Leu Phe Lys Ala		
275	280	285
Asn Pro Leu Val Asp Asn Cys Asn Ser Lys Lys Glu Pro Gly Tyr Gln		
290	295	300
Leu Leu Leu Trp Phe Gly Tyr Val Leu Glu Glu Leu Arg Ser Arg Gly		
305	310	315 320
Met Lys Val Trp Leu Ser Gly His Val Pro Pro Ile Ala Lys Asn Phe		
325	330	335
Asp Gln Ser Cys Tyr Asp Lys Phe Thr Leu Trp Thr His Glu Tyr Arg		
340	345	350
Asp Ile Ile Ile Gly Gly Leu Tyr Gly His Met Asn Ile Asp His Phe		
355	360	365
Ile Pro Thr Asp Gly Lys Lys Ala Arg Lys Ser Leu Leu Lys Ala Met		
370	375	380
Glu Gln Ser Thr Arg Val Gln Gln Gly Glu Asp Ser Asn Glu Glu Asp		
385	390	395 400

Glu Glu Thr Glu Leu Asn Arg Ile Leu Asp His Ala Met Ala Ala Lys
405 410 415

Glu Val Phe Leu Met Gly Ala Lys Pro Ser Asn Lys Glu Ala Tyr Met
420 425 430

Asn Thr Val Arg Asp Thr Tyr Tyr Arg Lys Val Trp Asn Lys Leu Glu
435 440 445

Arg Val Asp Glu Lys Asn Val Glu Asn Glu Lys Lys Lys Lys Glu Lys
450 455 460

Lys Asp Lys Lys Lys Lys Lys Pro Ile Thr Arg Lys Glu Leu Ile Glu
465 470 475 480

Arg Tyr Ser Ile Val Asn Ile Gly Gly Ser Val Ile Pro Thr Phe Asn
485 490 495

Pro Ser Phe Arg Ile Trp Glu Tyr Asn Ile Thr Asp Ile Val Asn Asp
500 505 510

Ser Asn Phe Ala Val Ser Glu Tyr Lys Pro Trp Asp Glu Phe Phe Glu
515 520 525

Ser Leu Asn Lys Ile Met Glu Asp Ser Leu Leu Glu Asp Glu Met Asp
530 535 540

Ser Ser Asn Ile Glu Val Gly Ile Asn Arg Glu Lys Met Gly Glu Lys
545 550 555 560

Lys Asn Lys Lys Lys Lys Lys Asn Asp Lys Thr Met Pro Ile Glu Met
565 570 575

Pro Asp Lys Tyr Glu Leu Gly Pro Ala Tyr Val Pro Gln Leu Phe Thr
580 585 590

Pro Thr Arg Phe Val Gln Phe Tyr Ala Asp Leu Glu Lys Ile Asn Gln
595 600 605

Glu Leu His Asn Ser Phe Val Glu Ser Lys Asp Ile Phe Arg Tyr Glu
 610 615 620

Ile Glu Tyr Thr Ser Asp Glu Lys Pro Tyr Ser Met Asp Ser Leu Thr
 625 630 635 640

Val Gly Ser Tyr Leu Asp Leu Ala Gly Arg Leu Tyr Glu Asn Lys Pro
 645 650 655

Ala Trp Glu Lys Tyr Val Glu Trp Ser Phe Ala Ser Ser Gly Tyr Lys
 660 665 670

Asp Asp

<210> 11

<211> 405

<212> DNA

<213> Rattus rattus

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(402)

<400> 11

atg gcc gag cag tca gac aag gat gtg aag tac tac act ctg gag gag 48
 Met Ala Glu Gln Ser Asp Lys Asp Val Lys Tyr Tyr Thr Leu Glu Glu
 1 5 10 15

att cag aag cac aaa gac agc aag agc acc tgg gtg atc cta cat cat 96
 Ile Gln Lys His Lys Asp Ser Lys Ser Thr Trp Val Ile Leu His His
 20 25 30

aag gtg tac gat ctg acc aag ttt ctg gaa gag cat cct ggt ggg gaa 144
 Lys Val Tyr Asp Leu Thr Lys Phe Leu Glu Glu His Pro Gly Gly Glu
 35 40 45

gaa gtc cta aga gag caa gct ggg ggt gat gct act gag aac ttt gag 192

Glu Val Leu Arg Glu Gln Ala Gly Gly Asp Ala Thr Glu Asn Phe Glu
 50 55 60

gac gtc ggg cac tct acg gat gca cga gaa ctg tcc aaa aca tac atc 240
 Asp Val Gly His Ser Thr Asp Ala Arg Glu Leu Ser Lys Thr Tyr Ile
 65 70 75 80

atc ggg gag ctc cat cca gat gac aga tca aag ata gcc aag cct tgc 288
 Ile Gly Glu Leu His Pro Asp Asp Arg Ser Lys Ile Ala Lys Pro Ser
 85 90 95

gaa acc ctt atc act act gtc gag tct aat tcc agt tgg tgg acc aac 336
 Glu Thr Leu Ile Thr Thr Val Glu Ser Asn Ser Ser Trp Trp Thr Asn
 100 105 110

tgg gtg atc cca gcc atc tca gcc ctg gtc gta gct ctg atg tat cgc 384
 Trp Val Ile Pro Ala Ile Ser Ala Leu Val Val Ala Leu Met Tyr Arg
 115 120 125

ctc tac atg gca gaa gat taa 405
 Leu Tyr Met Ala Glu Asp
 130

<210> 12

<211> 134

<212> PRT

<213> Rattus rattus

<400> 12

Met Ala Glu Gln Ser Asp Lys Asp Val Lys Tyr Tyr Thr Leu Glu Glu
 1 5 10 15

Ile Gln Lys His Lys Asp Ser Lys Ser Thr Trp Val Ile Leu His His
 20 25 30

Lys Val Tyr Asp Leu Thr Lys Phe Leu Glu Glu His Pro Gly Gly Glu
 35 40 45

Glu Val Leu Arg Glu Gln Ala Gly Gly Asp Ala Thr Glu Asn Phe Glu

50 55 60
 Asp Val Gly His Ser Thr Asp Ala Arg Glu Leu Ser Lys Thr Tyr Ile
 65 70 75 80
 Ile Gly Glu Leu His Pro Asp Asp Arg Ser Lys Ile Ala Lys Pro Ser
 85 90 95
 Glu Thr Leu Ile Thr Thr Val Glu Ser Asn Ser Ser Trp Trp Thr Asn
 100 105 110
 Trp Val Ile Pro Ala Ile Ser Ala Leu Val Val Ala Leu Met Tyr Arg
 115 120 125
 Leu Tyr Met Ala Glu Asp
 130

<210> 13

<211> 363

<212> DNA

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(360)

<400> 13

atg cct aaa gtt tac agt tac caa gaa gtt gcc gaa cac aat ggc cca 48
 Met Pro Lys Val Tyr Ser Tyr Gln Glu Val Ala Glu His Asn Gly Pro
 1 5 10 15

 gaa aat ttc tgg att atc atc gat gac aaa gtt tac gat gtt tct caa 96
 Glu Asn Phe Trp Ile Ile Ile Asp Asp Lys Val Tyr Asp Val Ser Gln
 20 25 30

 ttc aaa gat gaa cat cca ggt ggt gat gaa att ata atg gat ttg ggt 144
 Phe Lys Asp Glu His Pro Gly Gly Asp Glu Ile Ile Met Asp Leu Gly
 35 40 45

gga caa gal gct aca gaa agc ttt gtc gat atc ggt cat tct gac gaa 192
 Gly Gln Asp Ala Thr Glu Ser Phe Val Asp Ile Gly His Ser Asp Glu
 50 55 60

gca ttg aga cta ctg aaa ggt tta tac att ggt gac gtt gac aag acc 240
 Ala Leu Arg Leu Leu Lys Gly Leu Tyr Ile Gly Asp Val Asp Lys Thr
 65 70 75 80

agt gag cgc gtt tct gtg gaa aag gla tct acc tct gaa aac caa agt 288
 Ser Glu Arg Val Ser Val Glu Lys Val Ser Thr Ser Glu Asn Gln Ser
 85 90 95

aaa ggt agt ggt aca ttg gtt gtc ala ttg gcc att tta atg cta ggt 336
 Lys Gly Ser Gly Thr Leu Val Val Ile Leu Ala Ile Leu Met Leu Gly
 100 105 110

ggt gct tat tat ttg ttg aac gaa taa 363
 Val Ala Tyr Tyr Leu Leu Asn Glu
 115 120

<210> 14

<211> 120

<212> PRT

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 14

Met Pro Lys Val Tyr Ser Tyr Gln Glu Val Ala Glu His Asn Gly Pro
 1 5 10 15

Glu Asn Phe Trp Ile Ile Ile Asp Asp Lys Val Tyr Asp Val Ser Gln
 20 25 30

Phe Lys Asp Glu His Pro Gly Gly Asp Glu Ile Ile Met Asp Leu Gly
 35 40 45

Gly Gln Asp Ala Thr Glu Ser Phe Val Asp Ile Gly His Ser Asp Glu
 50 55 60

Ala Leu Arg Leu Leu Lys Gly Leu Tyr Ile Gly Asp Val Asp Lys Thr
65 70 75 80

Ser Glu Arg Val Ser Val Glu Lys Val Ser Thr Ser Glu Asn Gln Ser
85 90 95

Lys Gly Ser Gly Thr Leu Val Val Ile Leu Ala Ile Leu Met Leu Gly
100 105 110

Val Ala Tyr Tyr Leu Leu Asn Glu
115 120

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/00117

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl⁷ C12N15/09, C12Q1/68, G01N24/08

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl⁷ C12N15/09, C12Q1/68, G01N24/08

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
GeneBank/EMBL/DBJ/SwissProt/PIR/GeneSeq
CA/BIOSIS/WPIDS/MEDLINE (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Susan T. Sharfstein et al., "Polyphosphate Metabolism in Escherichia coli", Annal of the New York Academy of Science, 1994, Vol.745, pages77 to 99, full text	1-10
A	Nobuo OGAWA et al., "New compounds of a system for phosphate accumulation and polyphosphate metabolism in saccharomyces cerevisiae revealed by genomic expression analysis", Molecular Biology of the Cell, 2000, Vol.11, pages 4309 to 4321, full text	1-10
A	Edited by Izumi SAITO, separate volume Experimental Medicine, "The Protocol Series Idenshi Donyu & Hatsugen Kaiseki Jikkenho", Kabushiki Kaisha Yodosha, 01 September, 1997 (01.09.97), pages 98 to 133	1-10

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
03 April, 2003 (03.04.03)

Date of mailing of the international search report
15 April, 2003 (15.04.03)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Publication No.

PCT/JP03/00117

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 98/33809 A1 (The General Hospital Corp.), 06 August, 1998 (06.08.98), Full text & US 2002/142297 A1	1-10
A	WO 96/28190 A1 (Sloankettering Institute for Cancer Research), 19 September, 1996 (19.09.96), Full text & US 5703056 A & AU 9653123 A	1-10

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C12N15/09, C12Q1/68, G01N24/08

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C12N15/09, C12Q1/68, G01N24/08

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

GeneBank/EMBL/DDBJ/SwissProt/PIR/GeneSeq
CA/BIOSIS/WPIDS/MEDLINE (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	Susan T. Sharfstein et al. "Polyphosphate Metabolism in Escherichia coli" Annal of the New York Academy of Science, 1994, Vol. 745, p. 77-99, 文献全体参照	1-10
A	Nobuo Ogawa et al. "New compounds of a system for phosphate accumulation and polyphosphate metabolism in saccharomyces cerevisiae revealed by genomic expression analysis" Molecular Biology of the Cell, 2000, Vol. 11, p. 4309-4321, 文献全体参照	1-10
A	斉藤泉編, 別冊実験医学 ザ・プロトコルシリーズ 遺伝子導入&発現解 析実験法, 羊土社, 1997. 09. 01, p. 98-133	1-10

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

- の日の後に公表された文献
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

03. 04. 03

国際調査報告の発送日

15.04.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)
郵便番号 100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

坂崎 恵美子

4N

9451

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	WO 98/33809 A1 (The General Hospital Corporation) 1998.08.06, 文献全体参照, & US 2002/142297 A1	1-10
A	WO 96/28190 A1 (SloanKettering Institute for Cancer Research) 1996.09.19, 文献全体参照, & US 5703056 A & AU 9653123 A	1-10